

# EMISIONES DE ÓXIDO NITROSO PRODUCIDAS POR LA ACTIVIDAD GANADERA EN EL URUGUAY EN CONDICIONES DE PASTOREO

Facultad de Ciencias, Universidad de la República



**INFORME DE PASANTÍA**

**LUCIA BERGER BERRETTA**

**ORIENTADORA:** Ing. Agr., PhD, Verónica Ciganda

LICENCIATURA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PROFUNDIZACIÓN EN ECOLOGÍA. SETIEMBRE 2011

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Verónica Ciganda por todo el tiempo, disposición y trabajo que me brindó para poder realizar esta tesina.

A Julieta Mariotta y Alejandra Fonttaine, mis compañeras de trabajo.

A Graciela Vila, Alejandra Díaz y Anabella Domeniguini, personal de la biblioteca de INIA “La Estanzuela”, por la constante ayuda en la búsqueda de material.

## RESUMEN

La emisión de gases de efecto invernadero (GEI) y el consecuente cambio climático, son en la actualidad un tema de amplio interés mundial. En particular, los países agrícola ganaderos presentan la problemática de emisiones de GEI como consecuencia de esa actividad productiva. Las mayores emisiones netas en Uruguay provienen de los gases metano y óxido nitroso ( $N_2O$ ), responsables de un 62% y 38% del total de las emisiones, respectivamente. La orina del ganado provee al suelo grandes cantidades de nitrógeno (N), la cual origina la mayor parte de las emisiones de  $N_2O$  a nivel nacional. Estas emisiones varían según la disponibilidad de N en el suelo, tipo de pastura, contenido de oxígeno, humedad, temperatura, y otras características del suelo como la disponibilidad de carbono y pH. El objetivo del presente estudio fue cuantificar las emisiones de  $N_2O$  producidas por la orina de bovinos para carne sobre pastura cultivada y campo natural en diferentes estaciones del año, y evaluar los factores ambientales que determinan los flujos de emisión de dicho gas. El estudio mostró que los flujos de emisión de  $N_2O$  de la pastura cultivada durante el otoño ( $N-N_2O \leq 115,2 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ) fueron significativamente menores que en primavera ( $N-N_2O \leq 1134,5 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ). Por el contrario, en campo natural los flujos de otoño ( $N-N_2O \leq 474,8 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ) fueron significativamente mayores que en primavera ( $N-N_2O \leq 253,3 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ). Algunos de los factores que afectaron la emisión de  $N_2O$  fueron el contenido de humedad y el nivel de nitrato presente en el suelo. Es importante destacar que durante el período de otoño, el flujo de emisión en el experimento sobre campo natural mostró valores superiores al experimento sobre pastura cultivada, a pesar de que en este último se aplicó orina con un contenido de N más elevado. El presente estudio aporta información valiosa sobre las emisiones de  $N_2O$  en sistemas ganaderos reales de producción ya que cuantificó por primera vez las emisiones de  $N_2O$  de origen animal en Uruguay, a través de la metodología de medición de cámaras estáticas de flujo cerrado. A su vez, los resultados obtenidos realizan una contribución fundamental al desarrollo de factores de emisión nacionales de  $N_2O$ .

# INDICE

|   |    |
|---|----|
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....  | 1  |
| 1.1 Generalidades .....   | 1  |
| 1.2 El gas de efecto invernadero, óxido nitroso .....                           | 1  |
| 1.3 Factor de emisión.....  | 3  |
| 1.4 Fuentes de emisión de N <sub>2</sub> O.....                                 | 4  |
| 1.5 Mecanismos responsables de la formación de N <sub>2</sub> O .....           | 5  |
| 1.6 Factores que determinan las emisiones de N <sub>2</sub> O.....              | 7  |
| 1.7 Procesos que mitigan o inhiben la producción de N <sub>2</sub> O .....      | 9  |
| 1.8 Características de un parche de orina .....                                 | 10 |
| 1.9 Variaciones temporales y espaciales en la emisión de N <sub>2</sub> O ..... | 11 |
| HIPÓTESIS.....  | 13 |
| OBJETIVOS.....  | 13 |
| <b>2. MATERIALES Y METODOS</b> .....  | 14 |
| 2.1 Sitios de muestreo y diseño experimental .....                              | 14 |
| 2.2 Monitoreo de los flujos de N <sub>2</sub> O .....                           | 15 |
| 2.3 Colecta de orina .....  | 16 |
| 2.4 Mediciones de propiedades del suelo .....                                   | 16 |
| 2.5 Análisis de datos .....   | 17 |
| <b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....  | 18 |
| 3.1 Variables climáticas y características del suelo y de la vegetación.....    | 18 |
| 3.2 Cambios en la concentración de N <sub>2</sub> O durante las mediciones..... | 23 |
| 3.4 Flujo y temperatura del suelo .....   | 27 |
| 3.5 Flujo acumulado para cada período .....                                     | 29 |
| <b>5. DISCUSION</b> .....   | 31 |
| <b>6. CONCLUSIONES</b> .....  | 33 |
| <b>7. BIBLIOGRAFIA</b> .....  | 34 |

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1 Generalidades**

Las concentraciones de los gases de efecto invernadero (GEI) han ido en aumento desde finales del siglo XIX, donde se acepta que comienza la era industrial. Desde entonces, el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ha aumentado más del 30%, el metano (CH<sub>4</sub>) más del 100%, y el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) alrededor de 15% (Baethgen y Martino, 2000). Hasta hace un par de décadas, los estudios sobre emisiones de N<sub>2</sub>O producidas por pasturas destinadas al pastoreo eran escasos y poco exhaustivos, debido en su mayoría, a la dificultad que presenta la medición de pequeñas cantidades de gas en las muestras de aire (Sherlock y Goh, 1983). Sin embargo, gracias a importantes avances tecnológicos, y debido a que los GEI y sus consecuencias ocupan cada día un lugar más importante, el interés en este tipo de investigaciones ha aumentado, reflejado en la gran cantidad de artículos publicados en los últimos años. La mayoría de los estudios preliminares se enfocan en la identificación de fuentes y sumideros de este tipo de gases, cuantificación de emisiones y posibles estrategias de mitigación y adaptación. A nivel mundial, se han tomado iniciativas en el tema, como lo son la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (UNFCCC), y el establecimiento del Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático (IPCC), constituido por investigadores de diferentes países, cuyos objetivos principales son actualizar la información sobre el cambio climático y asesorar a los países sobre el tema. Otro hito sobre este tema es el Protocolo de Kioto, que define ciertos límites para las emisiones futuras para un grupo determinado de países, y además especifica mecanismos para la potencial reducción de las emisiones, incluyendo la creación de un mercado de carbono. Aquellos países que han ratificado el protocolo, deben inventariar y reportar cada cierto período de tiempo, las emisiones de GEI ante dicha convención. Este protocolo fue ratificado por el Gobierno Uruguayo en el año 2001. Éste exhorta al país a comprometerse a reducir las emisiones de GEI.

## **1.2 El gas de efecto invernadero, óxido nitroso**

Se ha notado que la combinación de varios gases de efecto invernadero alternativos al dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (NH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O y clorofluorocarbono) es tan nociva como el propio CO<sub>2</sub> (Lashof y Ahuja, 1990). Estos gases se encuentran presentes en la atmósfera en menores concentraciones que el CO<sub>2</sub>, pero son de suma importancia debido a que absorben la radiación infrarroja por molécula de manera más fuerte que el CO<sub>2</sub> (Lashof y Ahuja, 1990).

En la atmósfera más baja (tropósfera), la cantidad del gas N<sub>2</sub>O es de 0,00003%. Sin embargo, el potencial de generar efecto invernadero es de 200-3000 veces mayor que el del CO<sub>2</sub>. El N<sub>2</sub>O posee una fuerza radiativa 180 veces mayor que el CO<sub>2</sub> (Lashof y Ahuja, 1990) y se estima que la vida de este gas en la atmósfera es de 130 años (Di y Cameron, 2006). A su vez, ninguna reacción química remueve la molécula de N<sub>2</sub>O de la tropósfera, sino que puede llegar a la atmósfera media (estratósfera), donde es destruida por una reacción fotoquímica, formando

radicales de óxido nítrico. Dichos radicales están involucrados en la destrucción del ozono, por lo que el N<sub>2</sub>O también afecta indirectamente la capa de ozono de la estratosfera, la cual protege a la Tierra de los daños de la radiación ultravioleta (Bange, 2000).

Probablemente, la actividad humana sea la mayor responsable de aumentar la concentración de N<sub>2</sub>O en la atmósfera (Bouwman y Boumans, 2002). Una de las fuentes de mayor importancia que contribuyen a la emisión de gases como el N<sub>2</sub>O, son las prácticas agrícolas, incluso en países desarrollados (Kaiser y Heinemeyer, 1996; Flessa *et al.*, 2002). Se estima que entre el 20 y el 30% del total de N<sub>2</sub>O emitido anualmente es producido directamente por los campos destinados a la agricultura (Di y Cameron, 2006). Entre los suelos agrícolas, los pastizales son la mayor fuente de N<sub>2</sub>O, especialmente los utilizados para el pastoreo de animales (Luo *et al.*, 2010). Ellos responden por el 70% del total de las emisiones producidas por el sector agrícola (Skiba *et al.* 1996). En el caso de Uruguay, el N<sub>2</sub>O es producido casi en su totalidad por la actividad agropecuaria del país (más del 90%) (Baethgen y Martino, 2000), contribuyendo la ganadería en más del 80% (Segunda Comunicación Nacional, 2004). Esto se debe a la importancia del sector ganadero en el Uruguay. Las dos fuentes más importantes de nitrógeno (N) son la fertilización con N y la excreción animal (Saggar *et al.*, 2004b; van der Meer, 2008).

En el ámbito de la producción animal, se distinguen tres posibles fuentes directas de emisión de N<sub>2</sub>O: (i) los propios animales a través de pequeñas cantidades de emisión de origen intestinal liberadas durante la actividad ruminal, (ii) el estiércol y residuos generados por animales en confinamiento, y (iii) las heces y orina generadas por animales en pastoreo (Mosier *et al.*, 1998). A su vez las emisiones de N<sub>2</sub>O por parte del ganado pueden ser clasificadas en directas e indirectas. Las emisiones directas se refieren a las que son producidas por parte del animal, incluyendo las excreciones de orina y heces (Jungbluth *et al.*, 2001). El término indirecto abarca todo aquello que no deriva directamente del ganado, como las emisiones producidas por los cultivos utilizados para su alimentación, las emisiones de la aplicación de estiércol, emisiones de CO<sub>2</sub> durante la producción de fertilizantes para la producción de alimento, y aquella producida por el procesamiento y transporte de los productos derivados del ganado (Mosier *et al.*, 1998).

En las pasturas destinadas al pastoreo animal se producen importantes emisiones de N<sub>2</sub>O (Oenema *et al.*, 1997; Saggar *et al.*, 2004b; Hyde *et al.*, 2006; Carter, 2007) ya que los animales devuelven al suelo altas concentraciones de N y C disponible mediante la excreción (Saggar *et al.*, 2004b; van Groenigen *et al.*, 2005a). Esto se debe a que las pasturas (dieta del animal) poseen mayor cantidad de N de lo que el animal requiere para la síntesis de proteínas y aminoácidos. El problema se agudiza en sistemas de producción intensiva (Oenema *et al.*, 1997). La retención de N en los productos animales, ya sea leche, carne o lana, varía generalmente entre el 5 y 20% del N ingerido, siendo el resto excretado con las heces u orina (Oenema *et al.*, 1997, 2005). Ello afecta profundamente los procesos de pérdida y transformación de N en el suelo (Allen *et al.*, 1996). La cantidad de N excretado en la orina excede la capacidad de ser utilizado por las plantas de las pasturas (Clough *et al.*, 1996;

Wachendorf *et al.*, 2008), de manera que existe un remanente de N en el suelo. En particular, se destacan grandes emisiones de N<sub>2</sub>O en suelos utilizados para realizar agricultura o ganadería intensiva (Kelly *et al.*, 2008) cuando coinciden con condiciones anaeróbicas del suelo y grandes concentraciones de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, originados principalmente por la orina (de Klein y Eckard, 2008).

Se estima que entre el 30 y el 50% de las emisiones globales de la agricultura de N<sub>2</sub>O provienen de los desechos de la producción animal (Oenema *et al.*, 2005). Éstos contribuyen aproximadamente en 1,5 Tg del gas emitido, del cual un 41% de las emisiones provienen de la orina y heces de animales en pastoreo, 27% por fuentes indirectas, 19% por residuos de animales en establos y lugares de acumulación, 10% por aplicación de los desechos animales a la tierra, y un 3% por la combustión de las heces (Oenema *et al.*, 2005). En lo que se refiere a los animales, el ganado bovino no lechero aporta el 44%, seguido por el ganado bovino lechero, con el 16%, ovinos, el 12%; porcinos, el 9% y aves, el 6% (Oenema *et al.*, 2005).

El suelo mismo también es productor de N<sub>2</sub>O (Flessa *et al.*, 2002; Zaman *et al.*, 2007), por lo que se deberá también tener en cuenta a la hora de determinar un factor de emisión que abarque todas las fuentes de N<sub>2</sub>O. Asimismo, el suelo también lo absorbe, aunque generalmente el flujo neto es la emisión (Machefert *et al.*, 2002).

### 1.3 Factor de emisión

Si bien en algunos países, el factor de emisión (FE) es generado por el propio país, respondiendo a sus características internas, en la mayoría de los casos, el FE está basado en un valor de defecto (Mosier *et al.*, 1998) definido por el IPCC. En los países donde se han generado factores propios, Nueva Zelanda, Australia y parte de Sudamérica y Norteamérica, se realiza pastoreo de los pastizales con gran productividad animal por hectárea (Luo *et al.*, 2010) a diferencia de Uruguay, donde la ganadería se caracteriza por ser extensiva. A su vez, en aquellos países, se utilizan grandes cantidades de fertilizantes con N, por lo que la capacidad del suelo de conservar este exceso de N es limitada, perdiéndose por lixiviación como nitrato, o siendo emitido en forma gaseosa (amonio, óxido nítrico, N<sub>2</sub>O, y dinitrógeno) (Wachendorf *et al.*, 2008; Luo *et al.*, 2010).

Varios investigadores han presentado estudios, donde se demuestra que los valores por defecto que presenta el IPCC no son aproximaciones precisas (Brown *et al.*, 2001; Flessa *et al.*, 2002; Galbally *et al.*, 2010). Estudios realizados en Australia sugieren un FE significativamente menor que los valores por defecto (Galbally *et al.*, 2010). Las variaciones dentro de los FE se pueden deber, entre otros factores, a diferentes contenidos de agua entre los períodos de medición (Galbally *et al.*, 2010).

Una desventaja de los inventarios de GEIs es que sólo incluyen las emisiones de N<sub>2</sub>O relacionadas con las aplicaciones de N al suelo, si bien se conoce que existen otras fuentes de emisión (Baethgen y Martino, 2000). Sin embargo, estos valores por defecto proporcionados

por el IPCC tienen como ventaja su simplicidad, cobertura mundial, transparencia y libre acceso (Brown *et al.*, 2001).

Uruguay carece de información nacional cuantificada sobre los GEI, por lo que los inventarios nacionales anuales presentados ante la UNFCCC se realizan en base a factores de emisión por defecto recomendados para todos los suelos agrícolas a nivel mundial. Las emisiones gaseosas, y en particular de N<sub>2</sub>O, son muy dependientes de las características locales, como el clima, suelo, pasturas, entre otras. En consecuencia, la utilización de factores de emisión por defecto puede generar resultados erróneos, y por tanto un posicionamiento impreciso del país ante el IPCC. Existe entonces la necesidad de cuantificar y generar factores de emisión nacionales que permitan disponer de datos reales sobre la contribución de la agropecuaria nacional a las emisiones de GEI globales. Ello permitirá contrastarlas con los valores calculados utilizando los valores por defecto del IPCC, por lo que se espera que puedan contribuir a un cálculo más aproximado de los valores reales de emisiones gaseosas, principalmente N<sub>2</sub>O.

#### 1.4 Fuentes de emisión de N<sub>2</sub>O

Existen varias fuentes de emisión de N<sub>2</sub>O en suelos agrícolas. Algunos autores destacan los campos destinados al pastoreo como una de las fuentes más importantes de N<sub>2</sub>O, ya que el N es devuelto al suelo por parte de la orina y heces del ganado (Di y Cameron, 2006, Ambus *et al.*, 2007). Estas emisiones son mayores cuando se realiza pastoreo durante el período de otoño-invierno (de Klein *et al.*, 2006). También son una fuente potencial de emisión de N<sub>2</sub>O los establecimientos de engorde intensivos, en donde existe una gran concentración de ganado sobre una extensión pequeña de tierra, lo que conlleva agregación de las excreciones y gran compactación del suelo por pisoteo (Oenema *et al.*, 1997; Dalal *et al.*, 2003). Otras fuentes de N<sub>2</sub>O son: océanos, suelos, acuíferos, aguas servidas contaminadas, combustión de biomasa, uso de fertilizantes nitrogenados, perturbación de suelo, pasturas basadas en leguminosas, fijación biológica del N por parte de los cultivos, animales domésticos, emisiones provenientes de procesos industriales, automóviles, limpieza de terrenos e incineración de basura. (Bange, 2000; Monteny *et al.*, 2001; Dalal *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2008; Matthews *et al.*, 2010).

Los animales pueden tener un efecto importante en la disponibilidad de N luego de la roturación del tapiz vegetal debido a que: 1. los animales excretan del 75 al 95% del N ingerido (Whitehead, 1970); 2. el N que retorna al suelo por la excreción es rápidamente mineralizable; y 3. gran parte del N que retorna al suelo es reutilizado por el crecimiento de la cobertura vegetal (Davies *et al.*, 2001). A su vez, la mejora de las pasturas (destinadas al pastoreo animal) pueden resultar en mayores producciones de N<sub>2</sub>O (Davies *et al.*, 2001).

#### **Fertilizantes**

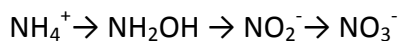
La potencial pérdida de N<sub>2</sub>O se debe no sólo a las heces y la orina de los animales sino también a la adición repetida a los suelos de N como fertilizantes nitrogenados (Poth y Focht, 1985;



Bouwman, 1996; Mosier et al., 1998; Smith et al., 1998a; Williams et al., 1999; Dobbie and Smith, 2003; Eckard et al., 2003; Saggar et al., 2004b; Luo et al., 2007; Hoogendoorn et al., 2008). Para que la producción de N<sub>2</sub>O por parte de la aplicación de fertilizantes sea significativa, debe ocurrir un período de lluvia que genere condición de humedad en el suelo (Ball et al., 1999; Williams et al., 1999). Para disminuir la contribución de los fertilizantes en las emisiones de N<sub>2</sub>O, éstos deberían ser aplicados siguiendo una serie de criterios que optimicen la utilización del N por parte de las plantas, como tomar en cuenta las variables climáticas y el suelo (ej. precipitaciones y drenaje del suelo) aplicándolo en el momento justo de crecimiento de los cultivos (Clayton et al., 1997; Luo et al., 2010). Es importante aclarar que los fertilizantes orgánicos (estiércol) aplicados al suelo, también son fuente de emisiones de N<sub>2</sub>O (Singurindy et al., 2009).

### 1.5 Mecanismos responsables de la formación de N<sub>2</sub>O

La producción de N<sub>2</sub>O ocurre primariamente como resultado de la actividad microbiana, tanto durante los procesos de nitrificación como de desnitrificación (Poth y Focht, 1985; Allen et al., 1996; Lovell y Jarvis, 1996; Ambus et al., 2007; Chen et al., 2008; de Klein y Eckard, 2008; Singurindy et al., 2009), junto con la quemodesnitrificación abiótica (Smith et al., 2001). La nitrificación consiste en la oxidación del amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) a nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) vía NH<sub>2</sub>OH, y luego a nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (Smith et al., 2001):



Es un proceso aeróbico (Machefert et al., 2002), que produce N<sub>2</sub>O como subproducto (de Klein y Eckard, 2008). Este proceso es generado por una amplia variedad de bacterias autotróficas capaces de obtener energía a partir de estas reacciones (Machefert et al., 2002).

También se forma N<sub>2</sub>O por desnitrificación, proceso por el cual el nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y el nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) son reducidos para dar óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) y dinitrógeno (N<sub>2</sub>) (Machefert et al., 2002):



En este caso, el N<sub>2</sub>O es un intermediario obligatorio (de Klein y Eckard, 2008). Es un proceso anaeróbico que requiere carbono reducido como suplemento de energía y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> como sustrato. Esta transformación es realizada por microorganismos anaeróbicos facultativos, que al momento de no haber oxígeno disponible, utiliza al NO<sub>3</sub><sup>-</sup> como aceptor terminal de electrones (Machefert et al., 2002). El pH óptimo para este proceso es 7.0-8.0 (Hasegawa et al., 2000). Ambos procesos pueden suceder en el mismo tiempo y lugar, debido a la heterogeneidad del suelo a nivel de microescala, y el balance entre la nitrificación y la desnitrificación puede variar rápidamente (Machefert et al., 2002, Zaman et al., 2007, de Klein and van Logtestijn, 1994).

Además de la nitrificación y desnitrificación, el  $N_2O$  puede ser producido también por la desnitrificación nitrificante, desnitrificación química y por hongos (Oenema *et al.*, 2005). Se propone que la emisión inmediata de  $N_2O$  puede ser explicada por la desnitrificación química, una reacción química que ocurre entre componentes menores de la orina (ej. aminoácidos) y los constituyentes del suelo, o por anaerobiosis en los micrositios como un resultado del  $CO_2$  generado por la rápida hidrólisis de la urea de la orina (Sherlock y Goh, 1983). Como fuente de  $N_2O$  por parte de suelos agrícolas, la desnitrificación química es menos importante que la nitrificación o desnitrificación biológica (Smith *et al.*, 2001). La desnitrificación química se da gracias al aumento de nitrito por parte de los parches de orina (Nelson y Bremner, 1970; Clough *et al.*, 1998). Dalal *et al.* (2003) también exponen otro tipo de mecanismo microbiano productor de  $N_2O$  denominado reducción asimilativa de nitrato.

Ciertos estudios realizados sobre suelos de turba han revelado que la mayor producción de  $N_2O$  se debe al proceso de nitrificación (Koops *et al.*, 1997). Sin embargo, estudios de campo indican que generalmente los valores altos de emisión de  $N_2O$  se encuentran ligados a condiciones del suelo características del proceso de desnitrificación (anaeróbico, buen suplemento de  $NO_3^-$ ), por lo que esta última sería la principal fuente de  $N_2O$  bajo escenarios de producción ganadera intensiva (Ambus *et al.*, 2007; de Klein y Eckard, 2008). Bajo suelos arenosos, de Klein and Van Logtestijn (1994) también observaron que el proceso dominante como fuente de  $N_2O$  fue la desnitrificación. Se destaca sin embargo el papel de la nitrificación como el responsable de convertir el N de la orina, urea o fertilizantes basados en  $NH_4^+$ , en  $NO_3^-$  (de Klein y Eckard, 2008).

### **Factores que determinan la nitrificación y desnitrificación**

La nitrificación y desnitrificación están influenciados por factores climáticos (ej. temperatura y precipitación) y del suelo (tanto características físicas como químicas) (Chen *et al.*, 2008). La producción de  $N_2O$  por parte del suelo dependerá de la disponibilidad de los sustratos para ambos procesos:  $NH_4^+$  para el caso de la nitrificación, y  $NO_3^-$  para la desnitrificación (Zaman *et al.*, 2007). Los reguladores más importantes de ambos procesos son: presión parcial del oxígeno, temperatura, pH, humedad del suelo, salinidad (Mosier *et al.*, 1998; Dalal *et al.*, 2003) y manejo del suelo (Machefert *et al.*, 2002). En el caso de la desnitrificación, también dependerá del carbono disponible para los procesos heterotróficos (Clough *et al.*, 2003).

En lo que se refiere a la humedad del suelo, mientras el porcentaje del espacio poroso lleno con agua (EPRA) se mantiene por debajo del 40%, el proceso dominante es la nitrificación. Por encima del 60-70%, se limita la difusión del oxígeno, dando lugar a la desnitrificación (Dalal *et al.*, 2003; Saggar, *et al.*, 2004b). A su vez, las tasas de nitrificación y desnitrificación aumentan a medida que aumenta la temperatura dentro de ciertos rangos, por lo que la emisión de  $N_2O$  aumenta con la temperatura (Dalal *et al.*, 2003). En particular, la desnitrificación responde rápidamente a los cambios en la cantidad de agua presente en el suelo (Ryden, 1983). También se ve afectada por el movimiento del suelo para cultivar, debido a que se modifican diferentes variables del mismo (Burford *et al.*, 1981).

## 1.6 Factores que determinan las emisiones de N<sub>2</sub>O

La producción de N<sub>2</sub>O está influenciada por múltiples variables tales como la temperatura, la humedad, la disponibilidad de O<sub>2</sub> y el sustrato. Todos estos factores están regulados por el clima, la vegetación, propiedades físicas y condiciones químicas del suelo (densidad aparente, C orgánico, pH y contenido en arcilla), y las prácticas de manejo agrícola (Allen *et al.*, 1996; Skiba *et al.* 1996; Flessa *et al.*, 2002; Ambus *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008; Matthews *et al.*, 2010).

### **Precipitación y humedad del suelo**

Según estudios realizados por Brumme *et al.* (1999), el factor hidrológico es el que mayor control ejerce sobre la emisión de N<sub>2</sub>O. En muchos estudios, los flujos de N<sub>2</sub>O mostraron un patrón similar al de las lluvias (de Klein *et al.*, 2006; Hyde *et al.*, 2006), dándose generalmente bajas emisiones de gas durante períodos de sequía (Velthof *et al.*, 1996<sup>a</sup>; Williams *et al.*, 1999). Los picos de emisión generalmente coinciden con precipitaciones (Saggar *et al.*, 2004b), y los valores más altos registrados, con los años más húmedos (Skiba *et al.*, 1996).

El contenido de agua del suelo influencia las condiciones de difusión determinando la cantidad de oxígeno disponible, lo cual controla la cantidad de N<sub>2</sub>O producido (Robertson y Tiedje, 1987). Davidson (1992) estudió la respuesta de suelos secos y húmedos con respecto a las emisiones de N<sub>2</sub>O. Encontró que durante el período en que el suelo se encuentra seco, no hay emisiones, mientras que al aplicar agua al suelo comienza inmediatamente la producción de N<sub>2</sub>O, tanto en forma biótica, como abiótica. Cuando el suelo se encuentra con gran cantidad de agua, incluso por encima de la capacidad del suelo de retenerla, las emisiones de N<sub>2</sub>O son mayores (Davidson, 1992; Allen *et al.*, 1996; Koops *et al.*, 1997; Saggar *et al.*, 2004b). Por lo tanto, los flujos de N<sub>2</sub>O tienen una fuerte correlación con la humedad del suelo (Machefert *et al.*, 2002; Saggar *et al.*, 2004b; Ball *et al.*, 1999; Carter, 2007; Orwin *et al.*, 2010).

Según de Klein *et al.* (2006), el EPRA es una de las variables que más se correlaciona con la emisión de N<sub>2</sub>O, lo cual está íntimamente relacionado con el drenaje del suelo (Saggar *et al.*, 2004b). Valores de EPRA mayores a 60-70% promueven la generación de N<sub>2</sub>O debido a que limita la difusión de O<sub>2</sub>, dando lugar a la desnitrificación; con valores de EPRA superiores a 80-90% la pérdida de N a través del gas N<sub>2</sub> es dominante respecto a N<sub>2</sub>O (Saggar, *et al.*, 2004b). Sin embargo, según otros estudios, (Machefert *et al.*, 2002) no existe una relación fuerte entre las emisiones de N<sub>2</sub>O y la lluvia. En el estudio de Clough *et al.* (1996) sobre suelo mineral, se realizó un tratamiento con y sin agua. Sus resultados demuestran que el suelo tratado con agua tuvo menor flujo de emisión de N<sub>2</sub>O que el suelo sin agua. Argumentan que puede deberse a que en el tratamiento con agua, existió mayor sustrato de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> presente en el suelo, por lo que se dio una mayor reducción completa del N<sub>2</sub>O con la consecuente formación de gas N<sub>2</sub>.

## **Temperatura**

Otro de los factores que contribuyen con las emisiones de N<sub>2</sub>O es la temperatura (Dobbie y Smith, 2001; Machefert *et al.*, 2002). Se ha observado que cuando el contenido de agua del suelo se encuentra cercano a la capacidad máxima de retención del suelo, las emisiones de N<sub>2</sub>O responden a los cambios de temperatura (Clayton *et al.*, 1997; Brumme *et al.*, 1999). Sin embargo, otros estudios no mostraron correlaciones entre las variaciones de emisión y la temperatura (Williams *et al.*, 1999; Singurindy *et al.* 2009).

Flessa *et al.* (1996) no observaron un efecto significativo entre las precipitaciones y la temperatura y los flujos de N<sub>2</sub>O, aunque proponen que la gran cantidad de N aplicado al suelo puede opacar los efectos de los factores climáticos.

## **Disponibilidad de C y N**

La disponibilidad de C y de N (causado por la cantidad de heces y orina animal) son factores determinantes de las emisiones de N<sub>2</sub>O (Davidson, 1991; Oenema *et al.*, 1997; Machefert *et al.*, 2002; van Groenigen *et al.* 2005a); en particular de compuestos orgánicos lábiles (Machefert *et al.*, 2002). Estudios que trabajaron con tratamientos de orina y de agua, tuvieron mayor respuesta a la emisión al adicionar orina que agua, de manera de que no sólo afecta un mayor EPRA, sino también la aplicación de N (Koops *et al.*, 1997). Sin embargo, Velthof *et al.* (1996b) observaron baja relación entre la emisión de N<sub>2</sub>O y el contenido de NH<sub>4</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y C del suelo.

## **Acides del suelo, pH.**

El pH del suelo es un factor que afecta los mecanismos que producen emisiones de N<sub>2</sub>O (Clough *et al.*, 2003). Luego de la deposición de la orina, el pH del suelo aumenta temporalmente por la formación de productos alcalinos durante la hidrólisis de la urea (Carter, 2007). Un estudio efectuado con enzimas desnitrificadoras evidenció una fuerte relación lineal negativa entre el pH del suelo y la tasa de emisión de N<sub>2</sub>O (van der Weerden *et al.*, 1998). Dalal *et al.* (2003) también evidenciaron que el proceso de desnitrificación decrece a medida que el pH del suelo disminuye. De manera similar, Weier y Gilliam (1986) observaron que con un pH del suelo menor a 5,8, la emisión de N<sub>2</sub>O aumenta, vía nitrificación, mientras que por encima de este valor, la emisión del N<sub>2</sub>O es mínima. Sin embargo, otros estudios realizados sobre suelos con pH altos (8.6) también notificaron emisiones significantes de N<sub>2</sub>O (Williams *et al.*, 1999). Según Bremner y Blackmer (1981) el pH óptimo para que se desarrolle la actividad nitrificante es de 7. Para la desnitrificación, el pH óptimo es 7.0-8.0 (Cervantes-Carrillo *et al.*, 2000; Hasegawa *et al.*, 2000; Ahn, 2006).

## **Tipo de suelo**

Los suelos difieren en la capacidad de generar emisiones de N<sub>2</sub>O (Luo *et al.*, 2010, Matthews *et al.*, 2010). Suelos mal drenados presentan mayores emisiones de N<sub>2</sub>O que los de buen drenaje

(de Klein *et al.*, 2003; Oenema *et al.*, 2005). Estos resultados se explican probablemente por las diferencias de humedad en el suelo (Allen *et al.*, 1996) que afectan la difusión de O<sub>2</sub>.

### **Compactación del suelo**

La compactación del suelo afecta las transformaciones del N con la subsecuente liberación de N<sub>2</sub>O, debido a que produce cambios en las propiedades físicas (Bhandral *et al.*, 2007; Oenema *et al.*, 1997) que afectan a la difusión de oxígeno del suelo. Uno de los factores que más contribuyen a la compactación del suelo es el pisoteo por la acción del pastoreo (Bhandral *et al.*, 2007). Esta compactación se agudiza en situación de pastoreo de cultivos forrajeros durante el invierno, debido a que muchas veces la humedad del suelo es elevada (Luo *et al.*, 2010). Las pérdidas gaseosas de N aumentan bajo una mayor compactación del suelo, (van der Meer, 2008), incluso pudiendo duplicarlas (Douglas y Crawford, 1993), o más (cinco a ocho veces más) (van Groenigen *et al.*, 2005a). Los sitios de descanso de los animales son áreas que presentan una gran compactación del suelo (van Groenigen *et al.*, 2005a) y reciben importantes cantidades de heces y orina, y por lo tanto de N, por lo que pueden ser considerados como “hot spots” de emisiones de N<sub>2</sub>O.

### **1.7 Procesos que mitigan o inhiben la producción de N<sub>2</sub>O**

Existen varias opciones de manejo de la producción agrícola que posibilitan la mitigación de la emisión de N<sub>2</sub>O por parte de las pasturas destinadas al pastoreo animal (Velthof *et al.*, 1998; Eckard *et al.*, 2003; de Klein *et al.*, 2006; Di y Cameron, 2006; Singurindy *et al.*, 2009). Estas estrategias se enfocan en los diferentes componentes del sistema agrícola. Dentro de ellos se destacan la nutrición de los animales, sistemas de estabulación, y alimentación, inhibidores de los procesos de producción de N<sub>2</sub>O del suelo, buen manejo del suelo, como por ejemplo, evitar condiciones anaeróbicas, buen manejo de los fertilizantes, selección de las variedades vegetales para un uso más eficiente del N, y manejo de estiércol de los animales (Johnson y Johnson, 1995; Velthof *et al.*, 1998; Hasegawa *et al.*, 2000; Davies *et al.*, 2001; de Klein y Ledgard, 2005; de Klein *et al.*, 2006; Di y Cameron, 2006; Luo *et al.*, 2006, 2008d, 2010; Zaman *et al.*, 2007; de Klein y Eckard, 2008; Kelly *et al.*, 2008; van der Meer, 2008).

Debido a que el N<sub>2</sub>O es básicamente un producto intermediario de la nitrificación y desnitrificación, se debe apuntar a generar condiciones óptimas para dichos procesos de manera de reducir la emisión (Monteny *et al.*, 2001). El uso de las diferentes tecnologías y herramientas para la reducción de emisiones de N<sub>2</sub>O deben responder a las complejas dinámicas del sistema productivo entero, de manera de asegurar que la reducción de emisiones en una parte del sistema, no contribuya con emisiones mayores en otra parte del mismo (de Klein y Eckard, 2008). La manera directa más simple de disminuir las emisiones de N<sub>2</sub>O por parte del ganado es disminuir la dotación, lo cual puede ser logrado a través del aumento de la productividad de carne por animal mediante la selección y cruzamiento del ganado (Oenema *et al.*, 1997; Luo *et al.*, 2010), tanto para ganado de cría como lechero.

## ***Dieta animal***

Debido a que la concentración de N presente en la orina determina las pérdidas de N<sub>2</sub>O, el control en la dieta de los animales es una opción a la hora de mitigar la producción del gas por parte de los sistemas agrícolas (Allen *et al.*, 1996; Oenema *et al.*, 1997; Velthof *et al.*, 1998; Satter *et al.*, 2002; de Klein y Ledgard, 2005; Ambus *et al.*, 2007). En un animal adulto, la cantidad de urea excretada por un organismo se correlaciona positivamente con la ingesta de N (Schmidt-Nielsen, 1959; Utley *et al.*, 1969; Kebreab *et al.*, 2001). Algunos autores sugieren la disminución de proteínas en la dieta como estrategia para reducir las emisiones de N<sub>2</sub>O hasta en un 20 % (Nielsen *et al.*, 2003). Esta tecnología, sin embargo, debe ir acompañada de una mejora en la eficiencia de conversión de proteína en carne para compensar las posibles pérdidas de ganancia de peso.

### **1.8 Características de un parche de orina**

Los volúmenes de orina excretada por los bovinos muestran variaciones a lo largo del día (Kertz *et al.*, 1970) y en promedio la excreción diaria total de orina es de 12,631 L y la de N, 65.72 g. El N excretado en la orina depende del N consumido (Kertz, *et al.*, 1970; Albin y Clanton, 1996; Ledgard *et al.*, 1999) siendo que entre el 80 y el 95% del N ingerido es excretado como heces y orina (Flessa *et al.*, 2002). El principal componente de la orina es la urea (Di y Cameron, 2008) pudiendo alcanzar hasta un 80% (Galbally *et al.*, 2010). Una vez en el suelo, la urea presente en la orina se hidroliza rápidamente a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, para ser oxidada (nitrificación) y luego rápidamente desnitrificada bajo las condiciones apropiadas (Whitehead, 1995; Allen *et al.*, 1996). Sin embargo, las pérdidas inmediatas de N<sub>2</sub>O responden a las formas móviles de N, más que a la cantidad total de N (Allen *et al.*, 1996). En comparación, el N de las heces se presenta como N orgánico, el cual no representa un compuesto tan disponible para la producción de N<sub>2</sub>O como la urea (de Klein y Eckard, 2008). Además, la orina presenta una mayor proporción de N (82%), en relación a las heces (Flessa *et al.*, 1996). Es por esto que la orina animal representa una mayor fuente de producción de N<sub>2</sub>O (Allen *et al.*, 1996, Ambus *et al.*, 2007; Wachendorf *et al.*, 2008), debido a que contiene altas concentraciones de N disponible, relativamente móviles (de Klein y Eckard, 2008).

#### ***Concentración de N en la orina***

Entre el 80 y 95% del N ingerido por los bovinos es excretado en forma de heces y orina (Flessa *et al.*, 2002). Kertz, *et al.* (1970) observaron que en promedio, la excreción diaria de orina fue de 12,631 L y la de N de 65.72 g. A su vez, Lovell y Jarvis (1996) reportaron que un solo parche de orina contiene hasta 45g de N. Por otro lado, Flessa *et al.* (1996) encontraron que la concentración de N en la orina fue de 0,6%.

### **Proporción de N de la orina emitido como N<sub>2</sub>O**

La proporción de N emitida como N<sub>2</sub>O por la aplicación de orina bovina reportada por distintos autores, muestra un amplio rango de variabilidad. En este sentido, estudios realizados por Galbally *et al.* (2010) demuestran que entre el 0,1 y 0,2% del porcentaje de N en la orina es convertido en N<sub>2</sub>O. Otros estudios (Ambus *et al.*, 2007) observaron de manera similar, una emisión relativa de N<sub>2</sub>O <0.3% respecto del N aplicado con la orina. De Klein y van Logtestijn (1994) observaron que de un 8 a 16% del nitrógeno de la orina se pierde como N<sub>2</sub>O. La relación de N liberado a la atmósfera como N<sub>2</sub>O con respecto al N excretado en la orina del ganado obtenida por Allen *et al.* (1996) varía desde ~0% (durante el verano) a 0,8-2,3% (durante el invierno). Koops *et al.* (1997) observaron que la pérdida de N tanto por nitrificación como por desnitrificación representa el 2,2% del total del N aplicado en la orina.

### **1.9 Variaciones temporales y espaciales en la emisión de N<sub>2</sub>O**

Existe la necesidad de cuantificar los flujos estacionales de N<sub>2</sub>O (Allen *et al.*, 1996) de manera de conocer el período del año durante el cual las emisiones son mayores. Se han identificado grandes variaciones en los flujos de N<sub>2</sub>O a lo largo del año (Williams *et al.*, 1999; Saggar *et al.*, 2004b). Generalmente, según ciertos estudios realizados en Europa, las mayores emisiones de N<sub>2</sub>O se producen durante la estación de crecimiento (Christensen y Tiedje, 1990; Velthof *et al.*, 1996a; Brumme *et al.*, 1999) y en menor medida durante el invierno, siendo las últimas más dependientes de las condiciones del clima, efectos residuales de la fertilización con N y de la excreción de N por parte del ganado (Velthof *et al.*, 1996a). Sin embargo según otros estudios, los flujos de emisión son mayores durante el invierno (Allen *et al.*, 1996; Williams *et al.*, 1999; Saggar *et al.*, 2004b). Las variaciones estacionales en los flujos de emisión se deben mayormente a fluctuaciones en el clima y diferencias en las prácticas de manejo del campo, entre las cuales se destacan el pastoreo y la aplicación de fertilizantes (Velthof *et al.*, 1996a; Luo *et al.*, 2008d).

Las variaciones durante el día no muestran diferencias importantes en los flujos (Velthof *et al.*, 1996b). Ciertos estudios (Sherlock y Goh, 1983; Williams *et al.*, 1999; Bhandral *et al.*, 2007; Kelly *et al.*, 2008) observaron un pico en las emisiones de N<sub>2</sub>O inmediatamente a la aplicación de la orina al suelo, para luego decrecer progresivamente (Bhandral *et al.*, 2007). Otros estudios observaron picos de emisión en los días siguientes a la aplicación de la orina, no de manera inmediata (Clough *et al.*, 1996; Lovell and Jarvis, 1996; Flessa *et al.*, 1996; Koops *et al.*, 1997; Galbally *et al.*, 2010). Un estudio realizado por de Klein y van Logtestijn (1994) tuvo como resultado incrementos en la emisión de N<sub>2</sub>O hasta 14 días luego de la aplicación de la orina. Estos estudios indican la importancia de realizar mediciones inmediatamente luego de aplicar los tratamientos y extenderlas hasta que los valores de emisión retornen a los niveles basales.

Los parches de orina se encuentran distribuidos al azar en el campo, exceptuando lugares propios de agregación animal, ej. áreas de descanso, bebederos, etc. (Velthof *et al.*, 1996b;

Galbally *et al.*, 2010), de manera que las variaciones espaciales de las emisiones de N<sub>2</sub>O son importantes (Skiba *et al.* 1996; Williams *et al.*, 1999; Saggar *et al.*, 2004b; Matthews *et al.*, 2010). Mientras que los fertilizantes artificiales se aplican al suelo en línea o al boleo, la excreción urinaria por parte del ganado bovino es realizada en manchas discretas que contienen grandes concentraciones de N soluble (Flessa *et al.*, 1996; Galbally *et al.*, 2010). Kaiser *et al.* (1996) observaron que el coeficiente espacial de variación en la emisión de N<sub>2</sub>O decrece logarítmicamente con el incremento del radio de las cámaras utilizadas. Velthof *et al.* (1996b) realizaron mediciones a pequeña escala (menos de 6m de distancia entre las cámaras) y a una mayor escala (10-100m entre los sitios), observando altas variaciones espaciales para ambas mediciones. Esto demuestra que a pesar de que las técnicas de medición abarquen grandes áreas, no se puede tener en cuenta toda la variación espacial de los flujos de N<sub>2</sub>O.



## **HIPÓTESIS**

La orina de bovinos en pastoreo aumenta la disponibilidad de N en el suelo favoreciendo la emisión de  $N_2O$ . La magnitud de la emisión de este gas es afectada por el contenido de N de la orina, el cual varía según el contenido proteico de la pastura ingerida, y por las características químicas y físicas del suelo, así como de humedad y temperatura, las cuales varían según la estación del año.

## **OBJETIVOS**

*Objetivo general:*

Cuantificar el flujo de emisión de  $N_2O$  proveniente de la orina bovina de animales en condiciones de pastoreo directo.

*Objetivos específicos:*

1. Ajustar el protocolo y la metodología de cámaras estáticas de flujo cerrado para la cuantificación de las emisiones de  $N_2O$  en el campo.
2. Cuantificar las emisiones de  $N_2O$  provenientes de la orina de bovinos en pastoreo en campo natural y en pastura cultivada.
3. Cuantificar el efecto de la estación del año sobre las emisiones totales de  $N_2O$  provenientes de la orina de bovinos en pastoreo.
4. Identificar las principales características químicas y físicas del suelo que afectan la emisión de  $N_2O$ .

## 2. MATERIALES Y METODOS

### 2.1 Sitios de muestreo y diseño experimental

Dos experimentos fueron instalados en condiciones contrastantes de uso del suelo: uno bajo pastura cultivada en su segundo año de producción, mezcla de una gramínea, festuca (*Festuca arundinacea* Schreb.) y una leguminosa, alfalfa (*Medicago sativa* L.) y el otro bajo campo natural regenerado dominado por gramilla (*Cynodon dactylon* Pers.) (Fig. 1), ambos dentro del predio de la estación experimental de INIA - "La Estanzuela" en el Dpto. de Colonia sobre suelos del tipo Brunosol éutrico a una distancia de 250 m entre ellos.

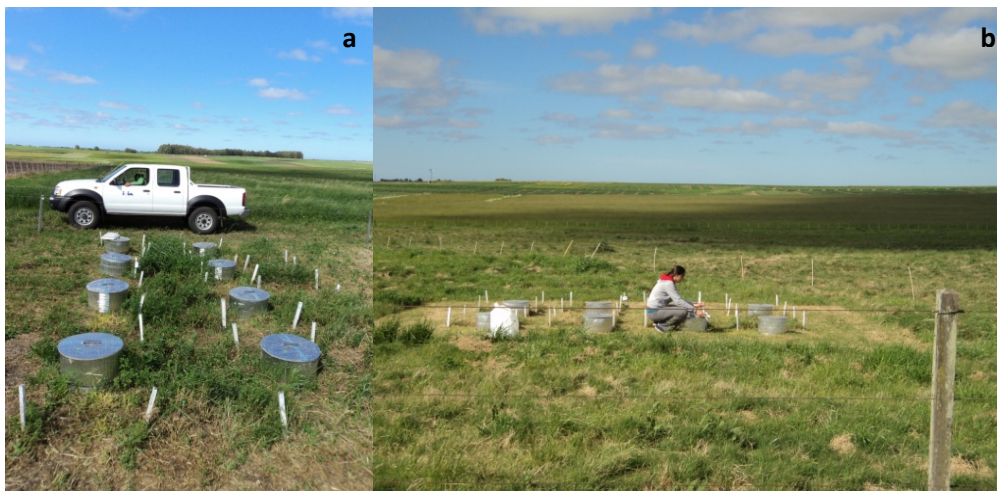


Figura 1. Detalle de los experimentos: a) pastura cultivada; b) campo natural.

Para las mediciones de  $N_2O$  se utilizó la metodología de cámaras de flujo cerrado. Éstas fueron construidas en acero inoxidable siguiendo los protocolos sugeridos por Rochette y Eriksen-Hamel (2008). Las mismas constan de dos partes: una base y una tapa de diseño circular (Fig. 2). La base se construyó con un diámetro de 40 cm y se insertó en el suelo 10 cm aproximadamente, sobresaliendo en la superficie un reborde acanalado de 2 cm de ancho. La tapa se construyó con un diámetro de 40,5 cm y una altura de 25 cm. Para lograr la aislación térmica de las cámaras, las tapas fueron forradas con una membrana aislante de espuma de polietileno aluminizada de 1 cm de espesor.



Figura 2. Detalle de las cámaras utilizadas para la medición de  $N_2O$ .

En cada experimento se utilizó un diseño estadístico de bloques completos al azar con cuatro repeticiones en las cuales la unidad experimental fue la cámara. El diseño de tratamientos en ambos experimentos fue factorial de dos factores por dos niveles: estación del año (Otoño vs. Primavera) y tratamiento (Control vs Orina). En cada bloque se instalaron dos cámaras a las que se les aplicaron los tratamientos: control (agua) u orina (un litro en ambos casos), lo que define un total de ocho cámaras por sitio experimental. La orina aplicada en cada sitio experimental se colectó manualmente de animales pastando campo natural o pastura cultivada en potreros correspondientes a los mismos sitios experimentales. Inmediatamente antes de aplicar los tratamientos, se colectó y acidificó una submuestra de orina para determinar su contenido de N (Cuadro 1).

Cuadro 1. Contenido de N en la orina aplicada en los experimentos de pastura cultivada y campo natural para ambos períodos.

| <b>Contenido de N en la orina</b> |              |                  |
|-----------------------------------|--------------|------------------|
|                                   | <b>Otoño</b> | <b>Primavera</b> |
| <b>Campo Natural</b>              | 0,53         | 0,60             |
| <b>Pastura Cultivada</b>          | 2,1          | 0,97             |

## **2.2 Monitoreo de los flujos de N<sub>2</sub>O**

En cada experimento, los tratamientos (orina o control) fueron aplicados en marzo (otoño) y en setiembre (primavera). En el período de otoño, los tratamientos se aplicaron el día 11 y 30 de marzo para pastura cultivada y campo natural respectivamente. En el período de primavera, los tratamientos se aplicaron el 17 y 30 de setiembre para pastura y campo natural respectivamente. La diferencia en el día de comienzo de los experimentos se debió a la disponibilidad de los bovinos utilizados de los cuales se obtuvo la orina. Luego de aplicados los tratamientos, los muestreos de gas se realizaron durante un período de cuatro semanas para campo natural y siete para pastura cultivada durante el período de otoño, y cinco semanas para campo natural y siete para pastura cultivada durante el período de primavera. La diferencia entre los períodos de muestreo se debió a la falta de disponibilidad de viales lo que generó un número final de muestreos distinto entre sitios y períodos del año. Los muestreos se realizaron utilizando una jeringa de vidrio de 10 mL la cual fue insertada a la cámara a través de un septa. Cada muestra contuvo 10 mL de aire y se evacuó en viales de vidrio de 6 mL al vacío (Extetainer, Labco, UK) (Fig. 3). De esta forma, los viales fueron sobrepresurizados para lograr una mejor preservación de la muestra hasta el momento de análisis. Las mediciones se realizaron siempre a media mañana (a partir de 10:00-10:30 am). Durante la primer semana pos-tratamiento se muestreó diariamente; en la segunda y tercer semana la frecuencia de muestreos se redujo a tres veces por semana; y desde la cuarta en adelante se realizaron

muestreos dos veces por semana. En todos los casos, se tomó una muestra en tiempo cero en cada cámara ( $t_0$ ), una a los 15 minutos ( $t_1$ ) y una tercera a los 30 minutos ( $t_2$ ). Las muestras de gas colectadas fueron empacadas y se realizaron envíos periódicos de las mismas al laboratorio de suelos de la Universidad de Lincoln, Nueva Zelanda, para la determinación de su concentración de  $N_2O$  por cromatografía de gas.



Figura 3. Detalle de la cámara, jeringa, viales y procedimiento de muestreo.

### 2.3 Colecta de orina

La orina se colectó de vacas hembras de raza carnífera las cuales fueron previamente asignadas a pastoreo en campo natural y a pastura cultivada por al menos una semana. Con la utilización del cepo, se estimuló manualmente la vulva de cada animal y se colectó la orina en una jarra plástica. Dicha orina se pasó a un recipiente grande de manera de acumular y homogeneizar la colecta de las diferentes vacas. Una vez recolectados los litros de orina necesarios, se tomaron cinco muestras de orina de 100 mL, a las cuales se le agregó 5 mL de ácido sulfúrico con el objetivo de inmovilizar el N de la muestra. Éstas fueron inmediatamente refrigeradas y analizadas para cuantificar su concentración de N. Luego, la orina homogeneizada fue traspasada a botellas plásticas de 1 L, para la posterior aplicación dentro de las cámaras cubriendo toda la superficie. La emisión de  $N_2O$  dentro de una mancha de orina no es homogénea, siendo mayor en el centro de la mancha y decrece hacia los bordes (Koops *et al.*, 1997), por lo que en el presente diseño de tratamiento se aplicó la orina de manera homogénea de manera de sortear los gradientes de los bordes por donde también se pierde parte del N aplicado. Otros estudios han aplicado la misma metodología (ej. de Klein and Van Logtestijn 1994; Clough *et al.*, 1996).

### 2.4 Mediciones de propiedades del suelo

En cada sitio experimental se establecieron parcelas de 1m x 1m contiguas a cada cámara en donde se aplicó el mismo tratamiento que en la cámara. Estas parcelas se utilizaron para monitorear la temperatura del suelo y su contenido de agua volumétrico (CAV) así como para realizar muestreos de suelo y planta, sin perturbar las condiciones de dentro de las cámaras. El CAV y la temperatura del suelo se monitorearon utilizando sensores de humedad (ECT,

*Decagon Devices*) y de temperatura (*Ec-5, Decagon Devices*). No se pudieron obtener datos de CAV suelo para el experimento en campo natural en otoño debido a factores de ajuste en la utilización de los sensores. Los suelos fueron muestreados en superficie (0-7, 5 cm) y analizados para carbono orgánico, nitrato, amonio, pH, y densidad aparente (Dap).

A partir de los valores de CAV y Dap se obtuvieron los valores del espacio poroso relleno con agua (EPRA) siguiendo la fórmula:

EPRA= CAV/Porosidad total (PT). A su vez la PT se estimó como:

$$PT=[1-(Dap /densidad de partícula)] *100.$$

## 2.5 Análisis de datos

Los cálculos de flujo de N<sub>2</sub>O y los análisis estadísticos se realizaron a través del programa R, software de acceso libre, que realiza análisis estadísticos y gráficos computarizados. En particular, se utilizó el paquete HMR (Pedersen et al., 2010), basado en la ecuación de flujo desarrollada por Hutchinson y Mosier (1981). Estos autores desarrollaron un protocolo, específicamente para la metodología de flujos de N<sub>2</sub>O para cámaras estáticas en el caso de que las concentraciones de gas no se ajustaran a una regresión lineal. Para esto, propusieron un algoritmo como alternativa a la regresión lineal (Ec. 1).

$$f_0 = V(C_1 - C_0)^2 / [A * t_1 * (2 * C_1 - C_2 - C_0)] * \ln[(C_1 - C_0)/(C_2 - C_1)] \quad \text{Ec.1}$$

donde  $f_0$  es el flujo en tiempo 0, V es el volumen de la cámara (L), A es la superficie del suelo ( $m^2$ ),  $C_0$ ,  $C_1$ , y  $C_2$  son las concentraciones de gas de la cámara (ppm(v)) en tiempo 0, 1, y 2, respectivamente, y  $t_1$  es el intervalo entre los puntos de muestreo de gas (min). Las unidades resultantes de  $f_0$  son:  $\mu\text{L del gas m}^{-2} \text{ min}^{-1}$ .

Cabe destacar que esta corrección sólo puede ser aplicada si se cumple que  $[(C_1 - C_0)/(C_2 - C_1)] > 1$  y si los tiempos de medición están distribuidos de igual manera.

El paquete HMR calcula los flujos basado en la entrada de datos de concentraciones a tres tiempos distintos. Por cada serie de datos chequea la linealidad del flujo y recomienda la aplicación de la ecuación HM, de la ecuación lineal, o la no existencia de flujo.

### Flujo acumulado

El flujo acumulado se calculó mediante la integral de todos los valores de flujo para cada experimento en otoño y primavera utilizando el método de integración trapezoidal. Este se realizó utilizando la función “suma-producto” en una planilla de Excel. La estimación del flujo acumulado para un igual período de tiempo (60 días) posibilitó la comparación entre los valores estimados para los distintos sitios y estación del año, superando así la dificultad generada por la desigualdad en el largo de los períodos de medición entre estos.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Variables climáticas y características del suelo y de la vegetación

##### Sitio de estudio

Los datos de temperatura del aire fueron obtenidos a partir de la base de datos de la Unidad de Meteorología de INIA La Estanzuela. Para el período de otoño, la temperatura osciló entre 6,7 y 30,8 °C; para el período de primavera entre 1,8 y 33,3 °C.

Los valores de precipitación también fueron obtenidos a partir de la misma base de datos (Fig. 4 y 5). En el período de otoño se registró una lluvia total de 128,1 mm, concentrada en dos momentos; en el período de primavera se registraron 111 mm, distribuyéndose en forma más regular a lo largo de todo el período de muestreo. Los datos obtenidos a través de sensores del contenido de agua volumétrica del suelo, (CAV), presentaron el mismo patrón de distribución que las precipitaciones (Fig. 4 y 5).

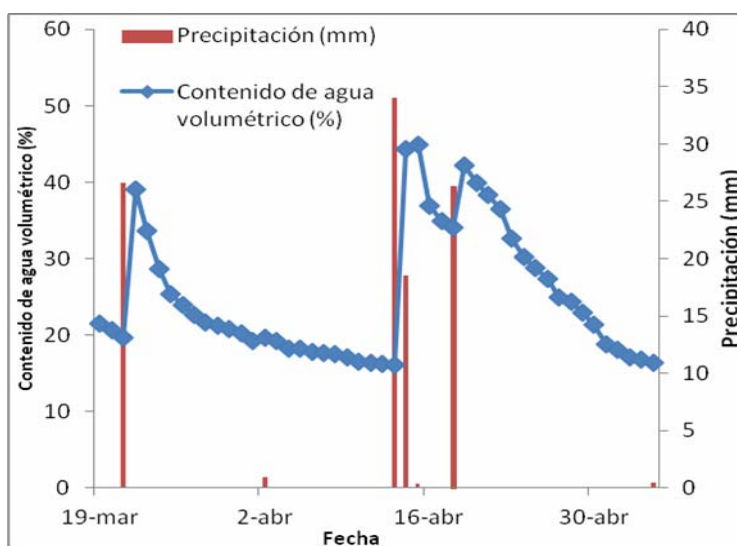


Figura 4. Distribución de la precipitación y del contenido de agua volumétrica del suelo para el sitio pastura cultivada durante el otoño.



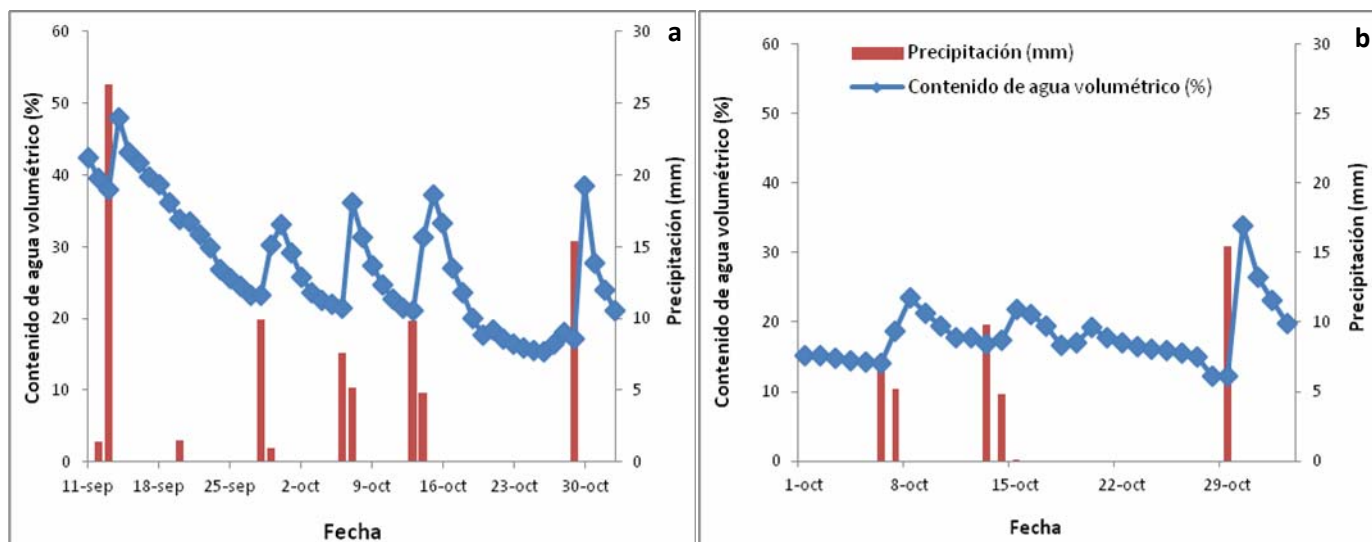


Figura 5. Distribución de la precipitación y del contenido de agua volumétrica del suelo para pastura cultivada (a) y campo natural (b) durante el período de primavera.

Para el período de otoño, los valores de CAV en el experimento sobre pastura oscilaron entre 16,13 y 44,92%. Para el período de primavera, dichos valores presentaron un rango de 15,28 a 48% para el experimento en pastura y de 12,2 a 33,9% para el de campo natural. No se dispone de valores de CAV para el período de otoño en el campo natural.

### **Características del suelo y vegetación**

Se tomaron datos de características de suelo y vegetación de cada sitio de muestreo al inicio del experimento para ambos períodos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características del suelo y la vegetación de las parcelas al inicio del experimento en otoño y primavera para campo natural y pastura cultivada.

| Período del año          | Otoño         |                   | Primavera      |              |                   |              |
|--------------------------|---------------|-------------------|----------------|--------------|-------------------|--------------|
|                          | Campo Natural | Pastura Cultivada | Campo Natural  |              | Pastura Cultivada |              |
| Sitio experimental       |               |                   | Control        | Orina        | Control           | Orina        |
| <b>Tratamiento</b>       |               |                   | <b>Control</b> | <b>Orina</b> | <b>Control</b>    | <b>Orina</b> |
| <b>Suelo</b>             |               |                   |                |              |                   |              |
| C.Org %                  | 5,44          | 3,35              | 4,28           | 3,46         | sd                | sd           |
| N-NO <sub>3</sub> µg N/g | 5,59          | 13,51             | 4,32           | 4,11         | 10,44             | 9,51         |
| N-NH <sub>4</sub> µg N/g | 18,49         | 48,1              | 14,88          | 15,29        | 8,59              | 8,13         |
| pH                       | Sd            | sd                | 5,95           | 5,9525       | 5,83              | 5,79         |
| Densidad aparente        | 1.18          | 1.41              | -              | -            | -                 | -            |
| <b>Vegetación</b>        |               |                   |                |              |                   |              |
| MS %                     | Sd            | sd                | 34,90          | 40,77        | 21,13             | 20,22        |
| N %                      | Sd            | sd                | 1,64           | 1,80         | 2,85              | 3,03         |

La evolución del contenido de  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $\text{N-NH}_4^+$  en el suelo y el pH del mismo se obtuvo solamente para la primavera (Fig. 6, 7 y 8).

En el experimento sobre campo natural, el contenido inicial de  $\text{N-NO}_3^-$  fue 4.3 y 4.1 ppm para el tratamiento control y orina, respectivamente, y presentó variaciones en ambos tratamientos a lo largo del período de muestreo alcanzando un valor máximo de 9.4 ppm (Fig. 6a). En este experimento, el tratamiento control presentó un leve aumento, aunque significativo, hacia la segunda fecha de muestreo y luego se mantuvo constante. Por otro lado, los valores de  $\text{NO}_3^-$  fueron afectados significativamente por la aplicación de orina hasta la tercera fecha de muestreo. Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos solamente en la segunda fecha ( $P>0.05$ ).

En el experimento sobre pastura cultivada, el contenido inicial de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo fue 10.4 y 9,5 ppm para el tratamiento control y orina, respectivamente (Fig. 6b). El tratamiento control no presentó cambios significativos a lo largo del período de muestreo mostrando valores inferiores a 13.2 ppm. Por el contrario, la orina generó un cambio positivo y significativo en el contenido de  $\text{NO}_3^-$  en la segunda fecha de muestreo respecto al valor inicial ( $P>0.05$ ) seguido por aumentos promedio de  $\text{N-NO}_3^-$  no significativos en las siguientes fechas alcanzando valores finales  $\leq 31.3$  ppm. El tratamiento orina mostró valores significativamente superiores al control en las últimas tres fechas de muestreo.

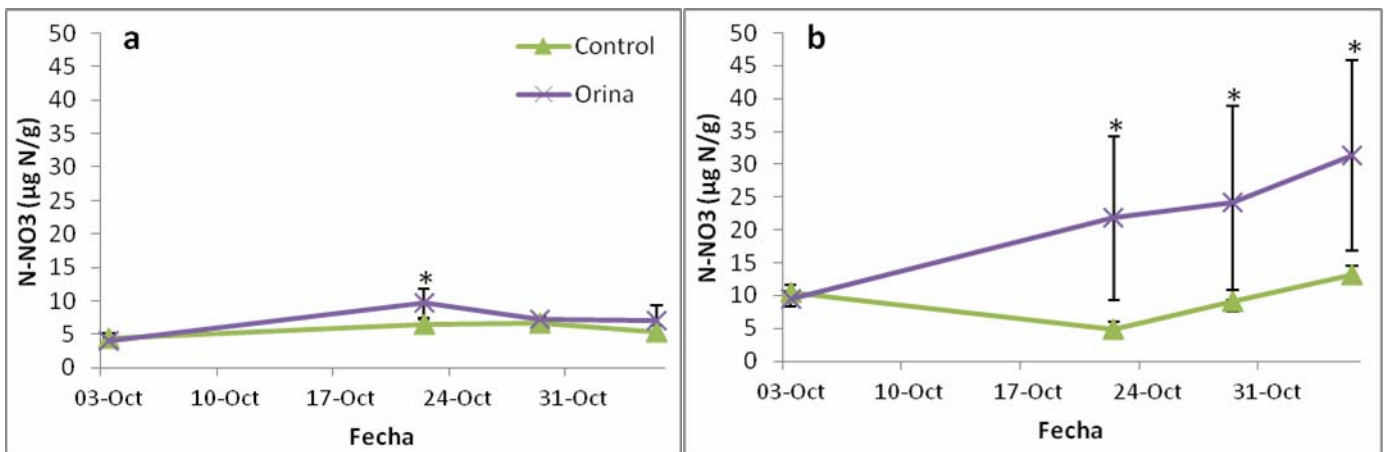


Figura 6. Contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo en primavera para campo natural (a) y pastura cultivada (b). Las barras verticales representan el desvío estándar de cada tratamiento para cada fecha. \* indica diferencia significativas entre tratamientos ( $P>0.05$ ).



En el experimento sobre campo natural, el pH inicial del suelo fue 5,95 y presentó variaciones en ambos tratamientos a lo largo del período de muestreo con valores que oscilaron entre 5,7 y 6,15. (Fig. 7a). En este experimento, el tratamiento control presentó un descenso significativo solamente desde la segunda a tercera fecha de medición. Por otro lado, los valores de pH fueron afectados significativamente por la aplicación de orina hasta la tercera fecha de muestreo. Se observó un aumento significativo del pH desde la primera fecha de medición hacia la segunda y luego disminuyó. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del período de medición.

En el experimento sobre pastura cultivada, el pH inicial del suelo fue 5,8 (Fig. 7b). El rango de valores de pH osciló entre 5,5 y 6,1. El tratamiento control presentó cambios significativos a lo largo de todo el período de muestreo. Se registró un aumento de pH hacia la segunda fecha de muestreo, seguido de un descenso. El tratamiento con orina generó un cambio significativo en el pH desde la segunda a tercera fecha de muestreo ( $P > 0.05$ ) únicamente. Al igual que en el experimento sobre campo natural, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

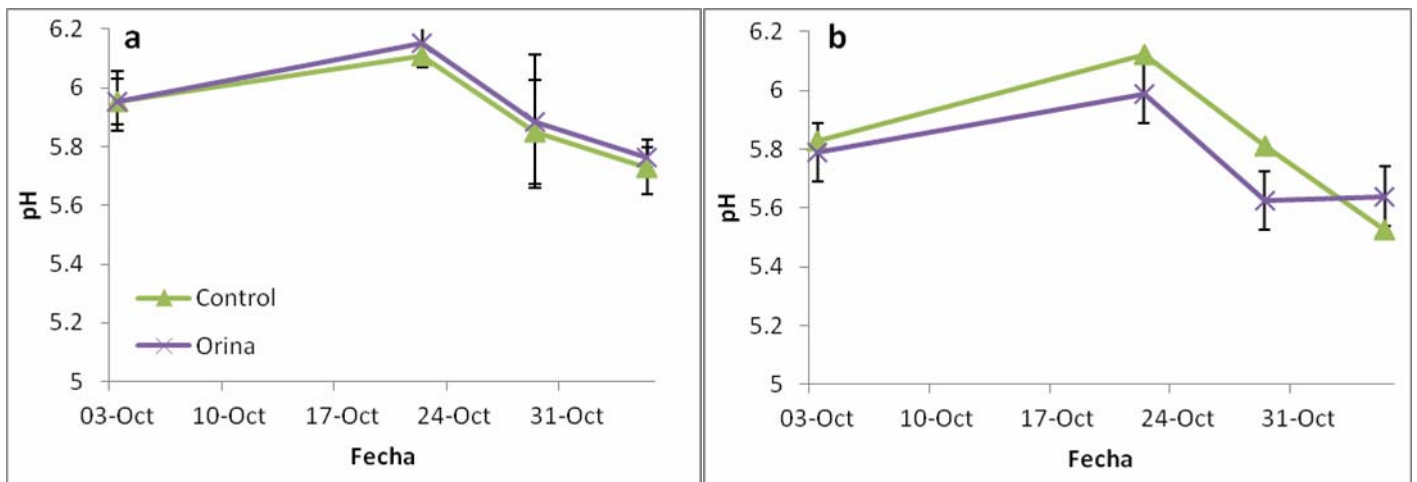


Figura 7. pH del suelo para el período de primavera para campo natural (a) y pastura cultivada (b). Las barras verticales representan el desvío estándar de cada tratamiento para cada fecha.

En el experimento sobre campo natural, el contenido inicial de  $\text{N-NH}_4^+$  fue 14,9 y 15,2 ppm para el tratamiento control y orina, respectivamente y presentó variaciones en ambos tratamientos a lo largo del período de muestreo alcanzando valores  $< 111,4$  ppm (Fig. 8a). En este experimento, el tratamiento control presentó un aumento significativo hacia la segunda fecha de muestreo presentando un máximo (114,4 ppm), para luego descender a valores  $\leq 15,5$ . La aplicación de orina generó un patrón similar, con un aumento significativo de la primer a la segunda fecha de medición con un máximo de 84,1 ppm, para luego descender a valores  $\leq 15,3$  ppm. Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos solamente en la segunda fecha ( $P>0.05$ ).

En el experimento sobre pastura cultivada, el contenido inicial de  $\text{N-NH}_4^+$  en el suelo fue 8,6 y 8,1 ppm para el tratamiento control y orina respectivamente (Fig. 8b). En este experimento, el tratamiento control presentó un aumento significativo hacia la segunda fecha de muestreo presentando un máximo (95,2 ppm), para luego descender a valores  $\leq 27,2$ . La aplicación de orina generó un patrón similar, con un aumento significativo de la primer a la segunda fecha de medición con un máximo de 98,1 ppm, para luego descender a valores  $\leq 26,2$  ppm. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

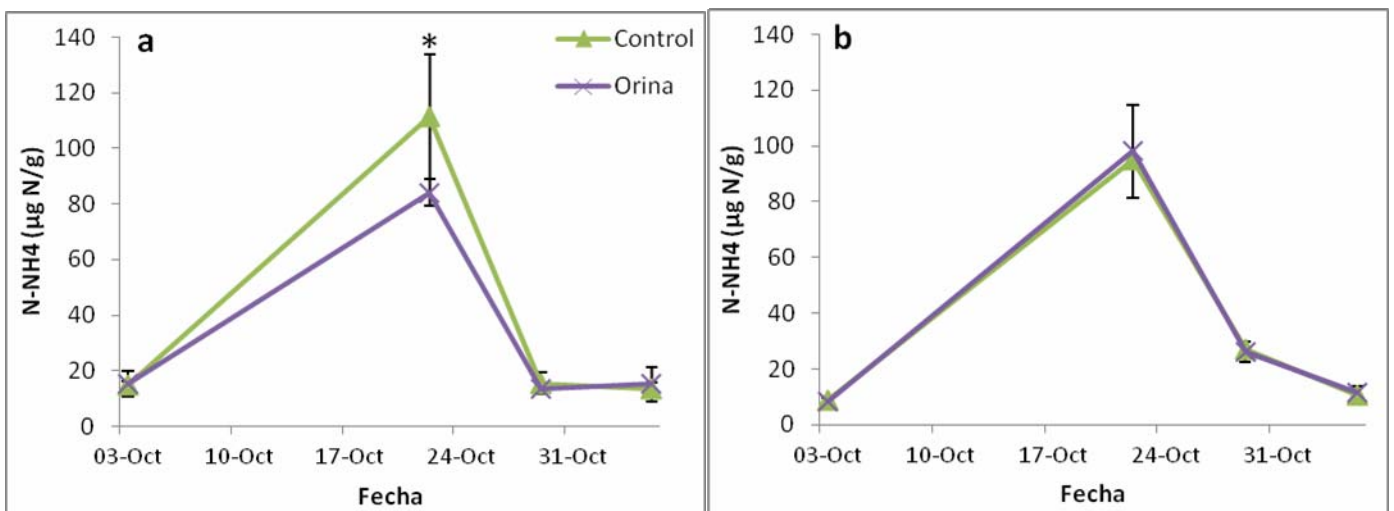


Figura 8. Contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  en el suelo para el período de primavera para campo natural (a) y pastura cultivada (b). Las barras verticales representan el desvío estándar de cada tratamiento para cada fecha. \* indica diferencias significativas entre tratamientos ( $P>0.05$ ).

## 3.2 Cambios en la concentración de N<sub>2</sub>O durante las mediciones.

### 3.2.1 Otoño

Durante el otoño, en el experimento sobre campo natural, los valores de concentración de N<sub>2</sub>O para los tratamientos control fueron bajos y constantes a través del período de muestreo (Fig. 9a). Por su parte, los tratamientos con orina mostraron una variación importante entre días y aumentos en la concentración de N<sub>2</sub>O desde la primera medición en tiempo cero (t<sub>0</sub>) hasta la tercera medición realizada 30 minutos después (t<sub>2</sub>). (Fig. 9b).

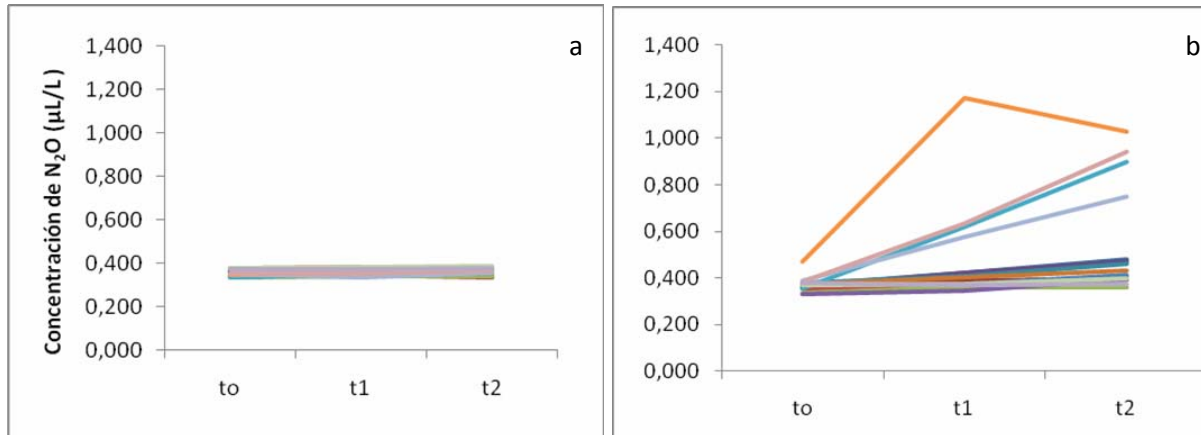


Figura 9. Cambios en la concentración de N<sub>2</sub>O medida en campo natural durante el período de otoño para los controles (a) y tratamientos con orina (b). Cada línea representa la evolución de la concentración de N<sub>2</sub>O promedio del tratamiento de un día de muestreo.

En el caso del experimento sobre pastura cultivada, algunas mediciones del tratamiento control presentaron flujos de N<sub>2</sub>O con valores superiores a los basales (Fig. 10a). Esto puede estar relacionado a los valores iniciales de NO<sub>3</sub> en el suelo y las condiciones de humedad, que hayan favorecido emisiones de N<sub>2</sub>O superiores a las esperadas. De todas formas, y de acuerdo a lo esperado, los valores obtenidos en los tratamientos con orina fueron superiores y mostraron flujos de emisión de N<sub>2</sub>O en varios días durante el período de muestreo. (Fig. 10b).

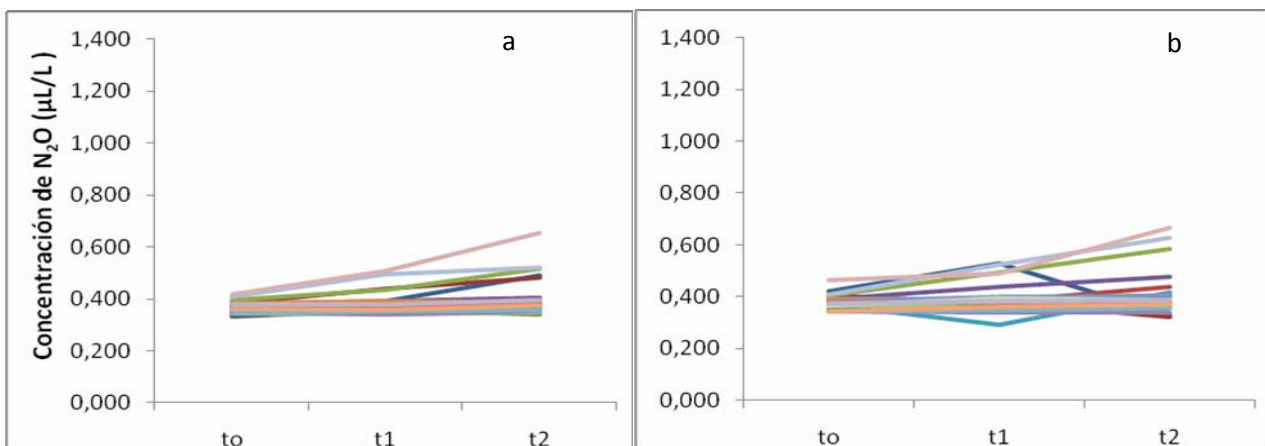


Figura 10. Cambios en la concentración de N<sub>2</sub>O medida en pastura cultivada durante el período de otoño para los controles (a) y tratamientos con orina (b). Cada línea representa la evolución de la concentración de N<sub>2</sub>O promedio del tratamiento de un día de muestreo.

### 3.2.2 Primavera

En la primavera, en el experimento sobre campo natural no se observan mayores diferencias entre tratamientos (Fig. 11). Sin embargo, en el tratamiento con orina, se observa que las líneas de evolución de la concentración presentan un leve aumento hacia el  $t_2$ , siendo esta tendencia lineal.

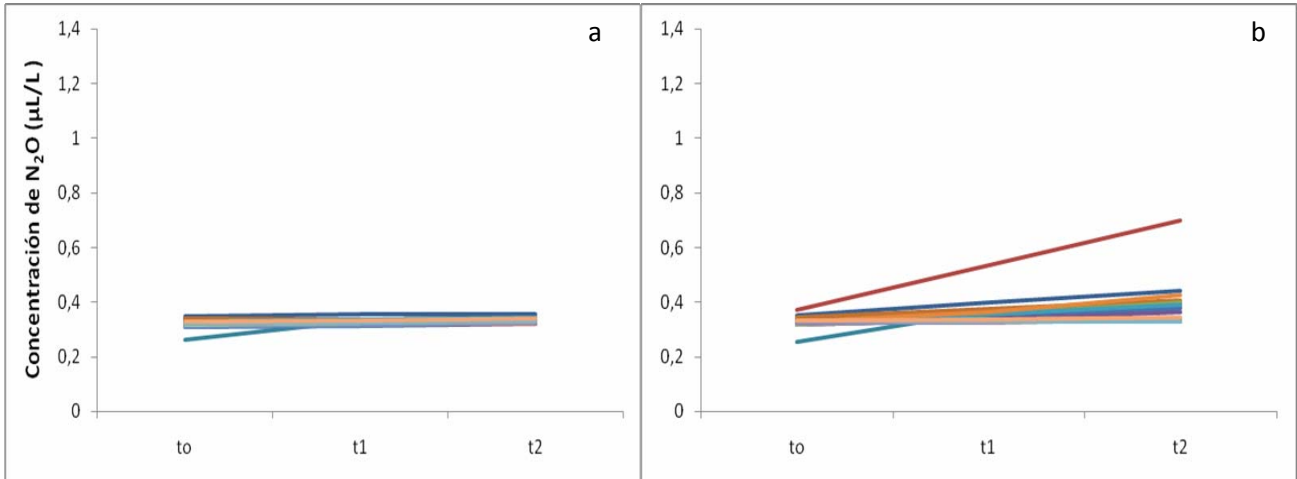


Figura 11. Cambios en la concentración de  $N_2O$  medida en campo natural durante el período de primavera para los controles (a) y tratamientos con orina (b). Cada línea representa la evolución de la concentración de  $N_2O$  promedio de cada tratamiento de un día de muestreo.

En el experimento sobre pastura cultivada, los valores de concentración fueron mayores para los tratamientos con orina que para los controles, manteniéndose estos últimos en valores de concentración inferiores a  $0,38 \mu L/L$  (Fig. 12). Claramente se observa un aumento en la concentración de  $N_2O$  desde  $t_0$  a  $t_2$  en el tratamiento con orina, presentando mayores pendientes que con respecto al tratamiento control. A su vez se observa una tendencia lineal de aumento de la concentración desde  $t_0$  a  $t_2$ .

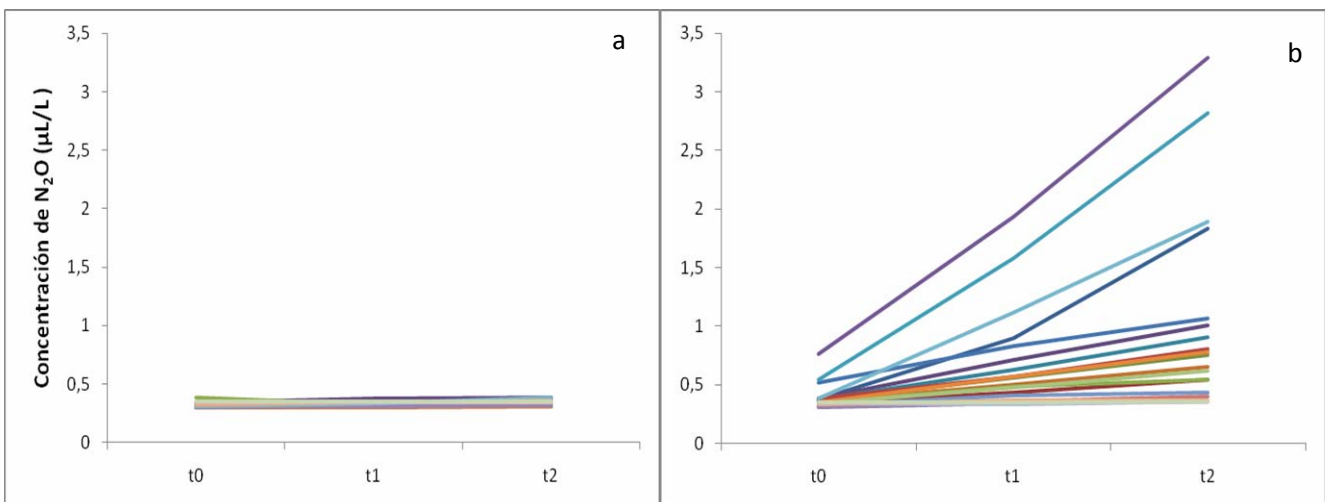


Figura 12. Cambios en la concentración de  $N_2O$  medida en pastura cultivada durante el período de primavera para los controles (a) y tratamientos con orina (b). Cada línea representa la evolución de la concentración de  $N_2O$  promedio de cada tratamiento de un día de muestreo.

### 3.3.1 Otoño

En el experimento sobre campo natural durante el otoño, ambos tratamientos mostraron un patrón similar de flujos de  $N_2O$  durante los primeros 15 días de iniciado el experimento (Fig. 13) con niveles de emisión que no superaron los 22 y 110  $\mu g N-N_2O m^{-2} h^{-1}$  en el control y orina respectivamente. A partir del día 16, los tratamientos se diferenciaron en su patrón de emisión ya que el control mantuvo valores bajos durante todo el período de muestreo ( $N-N_2O < 36 \mu g m^{-2} h^{-1}$ ) mientras que en el tratamiento con orina se registraron picos de emisión en los días 16, 18, 20 y 23 del experimento ( $264,5 > \mu g N-N_2O m^{-2} h^{-1} < 474,8$ ). Estos picos fueron registrados luego de la ocurrencia de eventos de precipitación en los días 15, 16 y 20 del experimento.

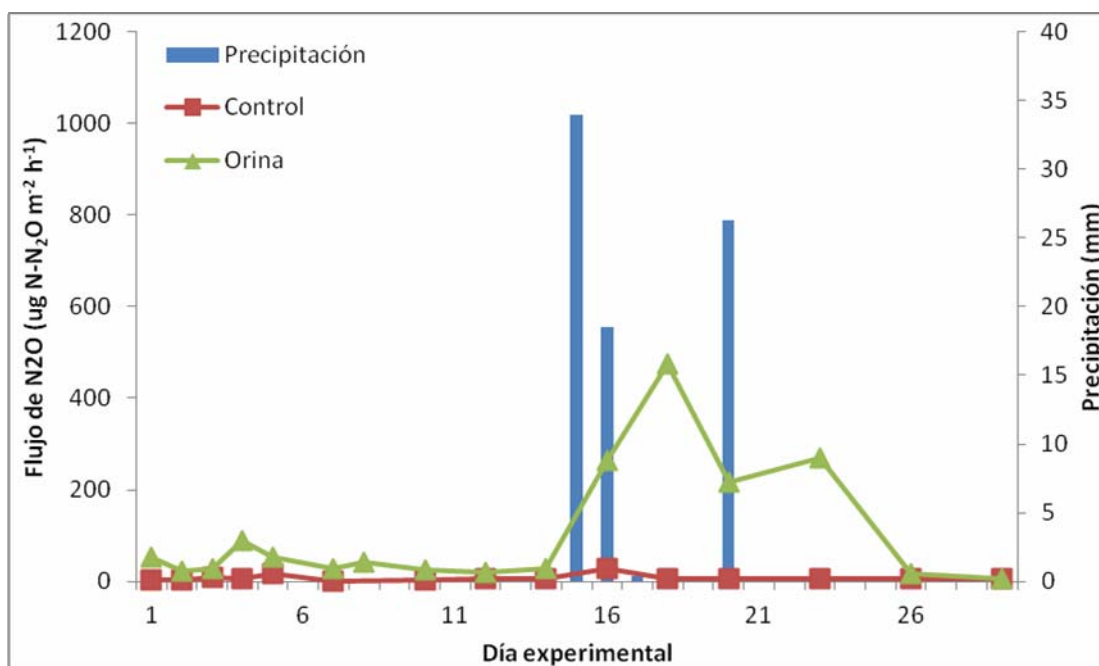


Figura 13. Evolución del flujo de emisión de  $N-N_2O$  y eventos de precipitación en el experimento sobre campo natural durante el otoño.

En el experimento sobre pastura cultivada durante el otoño, el patrón y la magnitud del flujo de  $N_2O$  fue similar para el tratamiento con orina que para el control (Fig. 14), a pesar del N aplicado en el tratamiento con orina. En los días 11, 37 y 41 se registraron picos de flujo de  $N_2O$  en ambos tratamientos que coincidieron con los eventos de precipitación.

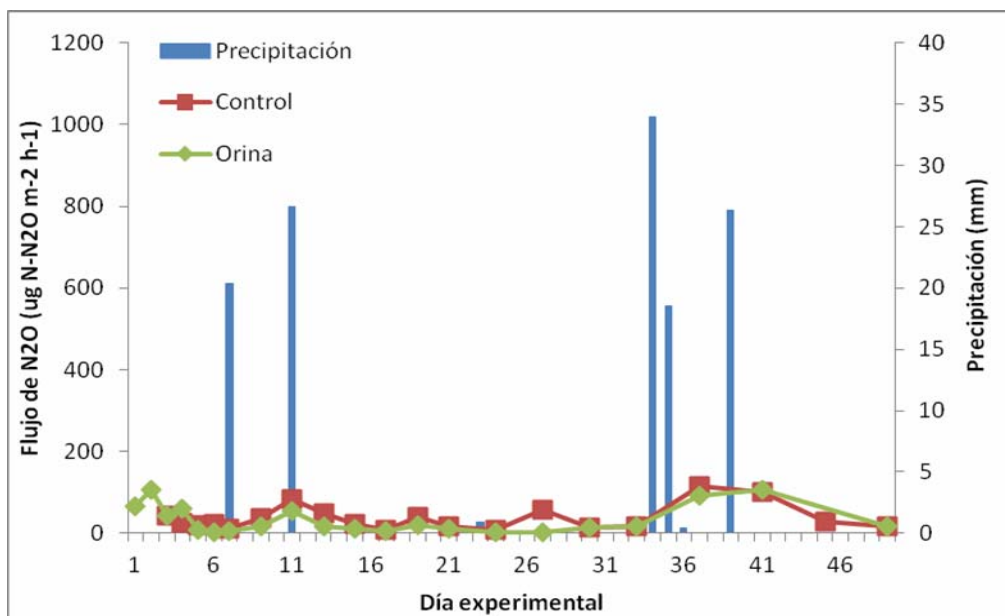


Figura 14. Evolución del flujo de emisión de N-N<sub>2</sub>O y eventos de precipitación en el experimento sobre pastura cultivada durante el otoño.

### 3.3.2 Primavera

En el experimento sobre campo natural durante la primavera, el control mostró valores bajos de flujo ( $\text{N-N}_2\text{O} < 45,2 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ) y mínimas variaciones a lo largo del período de muestreo (Fig. 15). El tratamiento orina mostró un primer pico de emisión el día 5 pos-aplicación con un valor de  $253 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ , siendo éste el valor más alto de todo el período de muestreo. Un siguiente pico se registró en el día 9 presentando un valor de  $156 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ , probablemente como respuesta a un pico de CAV de 23,5 % y EPRA de 42%. Los valores de CAV en suelo oscilaron entre 12,2 y 33,9% y los de EPRA entre 21,99 y 61,11%.

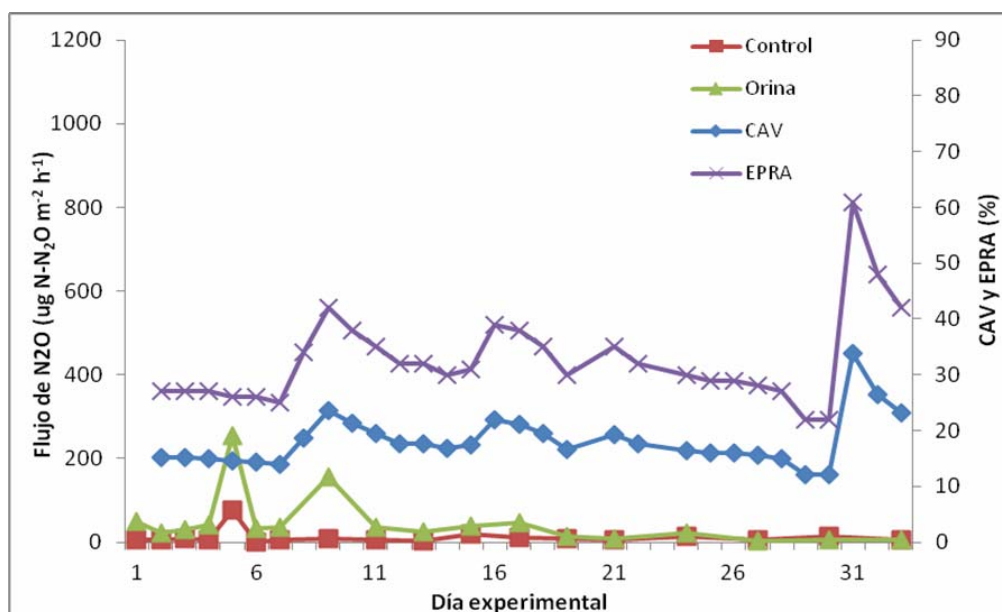


Figura 15. Evolución del flujo de emisión de N-N<sub>2</sub>O, CAV y EPRA en el experimento sobre campo natural durante la primavera.

En el experimento sobre pastura durante el período de primavera, los tratamientos mostraron patrones de flujos de emisión diferentes. El control se mantuvo en valores bajos, con mínimas variaciones, durante todo el período de muestreo. El tratamiento con orina mostró picos de emisión de distinta magnitud hasta el día 33, a partir del cual los valores medidos fueron similares e inferiores a  $35,3 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$  en ambos tratamientos (Fig. 16).

En general, los picos de emisión en el tratamiento orina siguieron a incrementos en la humedad del suelo. El primer pico se registró inmediatamente luego de la aplicación de la orina, con un valor de  $656,4 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$ , coincidiendo con valores altos de CAV (39,7%) y EPRA (85%). El valor más elevado de flujo de emisión, se registró el día 13 con un valor de  $1134,5 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$  coincidiendo con un valor de EPRA entre 65% y 70%. Los valores de CAV del suelo oscilaron entre 15,3 y 38,7% y los valores de EPRA entre 32,66 y 84,91%

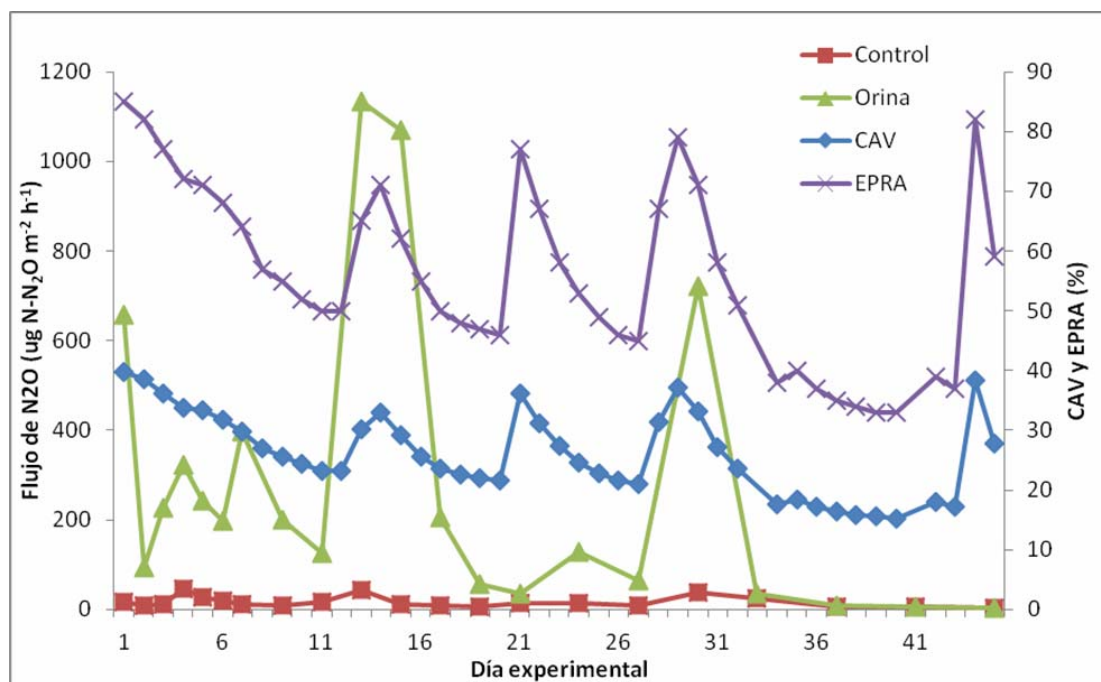


Figura 16. Evolución del flujo de emisión de N-N<sub>2</sub>O, CAV y EPRA en el experimento sobre pastura cultivada durante la primavera.

### 3.4 Flujo y temperatura del suelo

Durante el período de otoño, la temperatura del suelo en el experimento realizado sobre pastura cultivada, osciló entre 12,5 y 23,3 °C. Durante el período de primavera, los rangos de temperatura en los experimentos realizados sobre campo natural y pastura cultivada fueron 11,5 a 17°C y 11 a 17,8°C, respectivamente.

La emisión de N<sub>2</sub>O mostró un comportamiento independiente de la temperatura del suelo (Fig. 17), no mostrando variaciones según cambios de la temperatura. En ningún caso los picos de flujo correspondieron con un pico de temperatura.



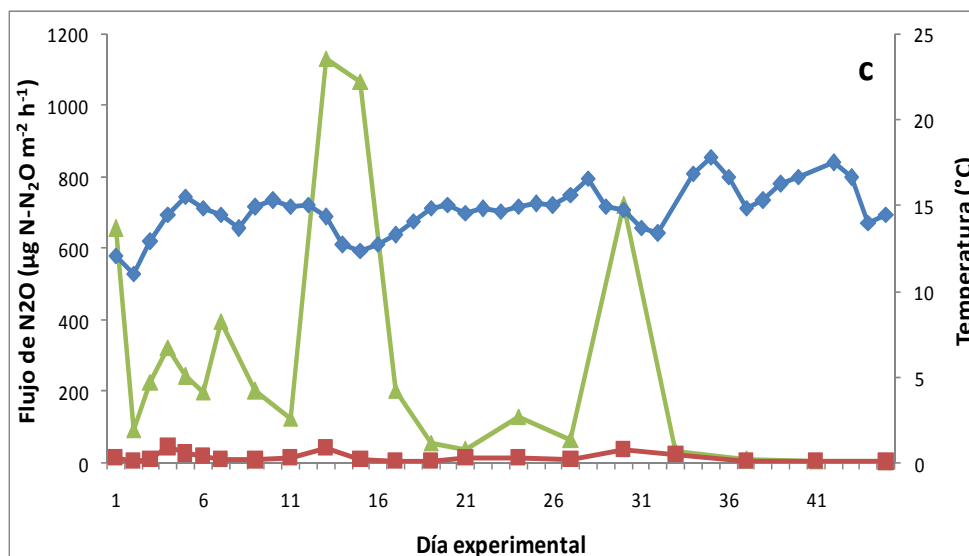
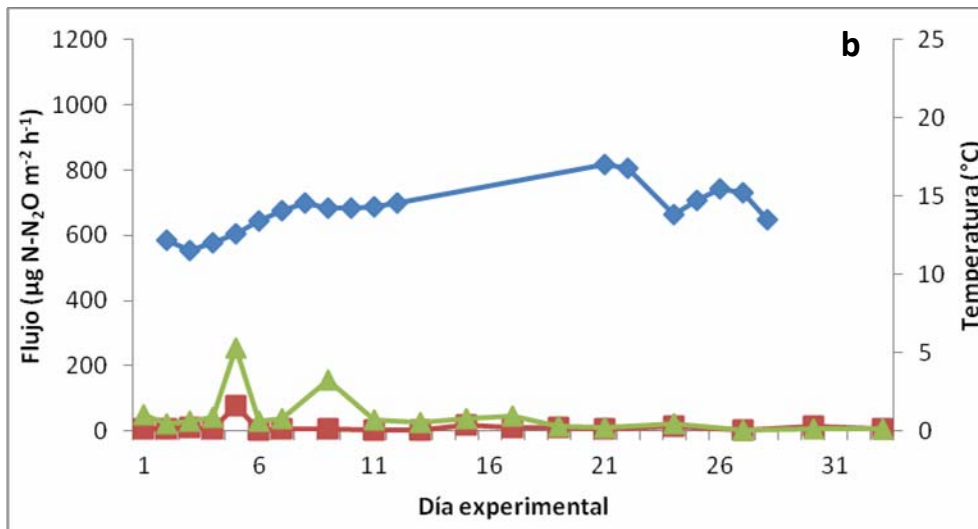
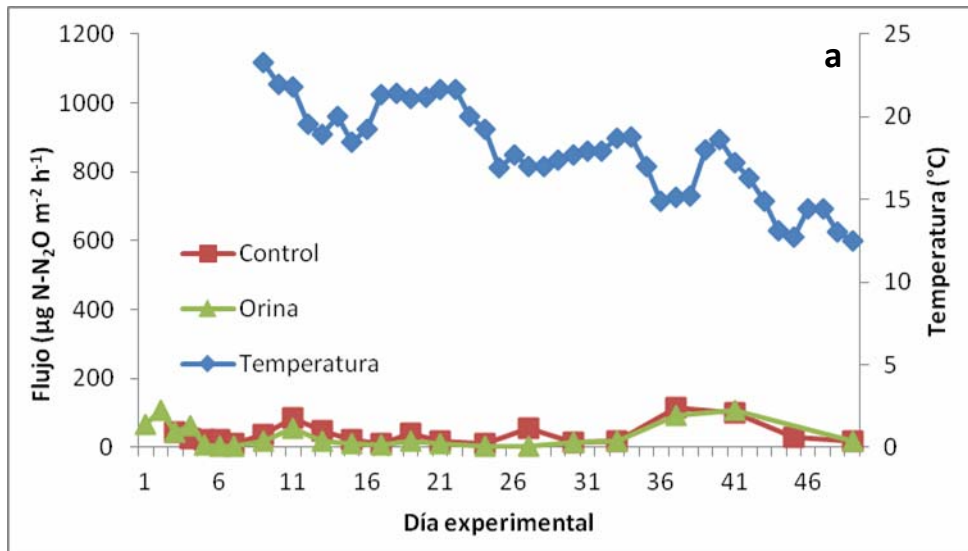


Figura 17. Evolución del flujo de emisión de N<sub>2</sub>O y temperatura del suelo para el experimento de pastura cultivada en otoño (a); campo natural en primavera (b); y pastura cultivada en primavera (c).



### 3.5 Flujo acumulado para cada período

Los flujos de emisión de N<sub>2</sub>O acumulado durante un período de 60 días presentaron variaciones entre tratamientos y estación del año en ambos experimentos (Fig. 18, Cuadro 3 y 4).

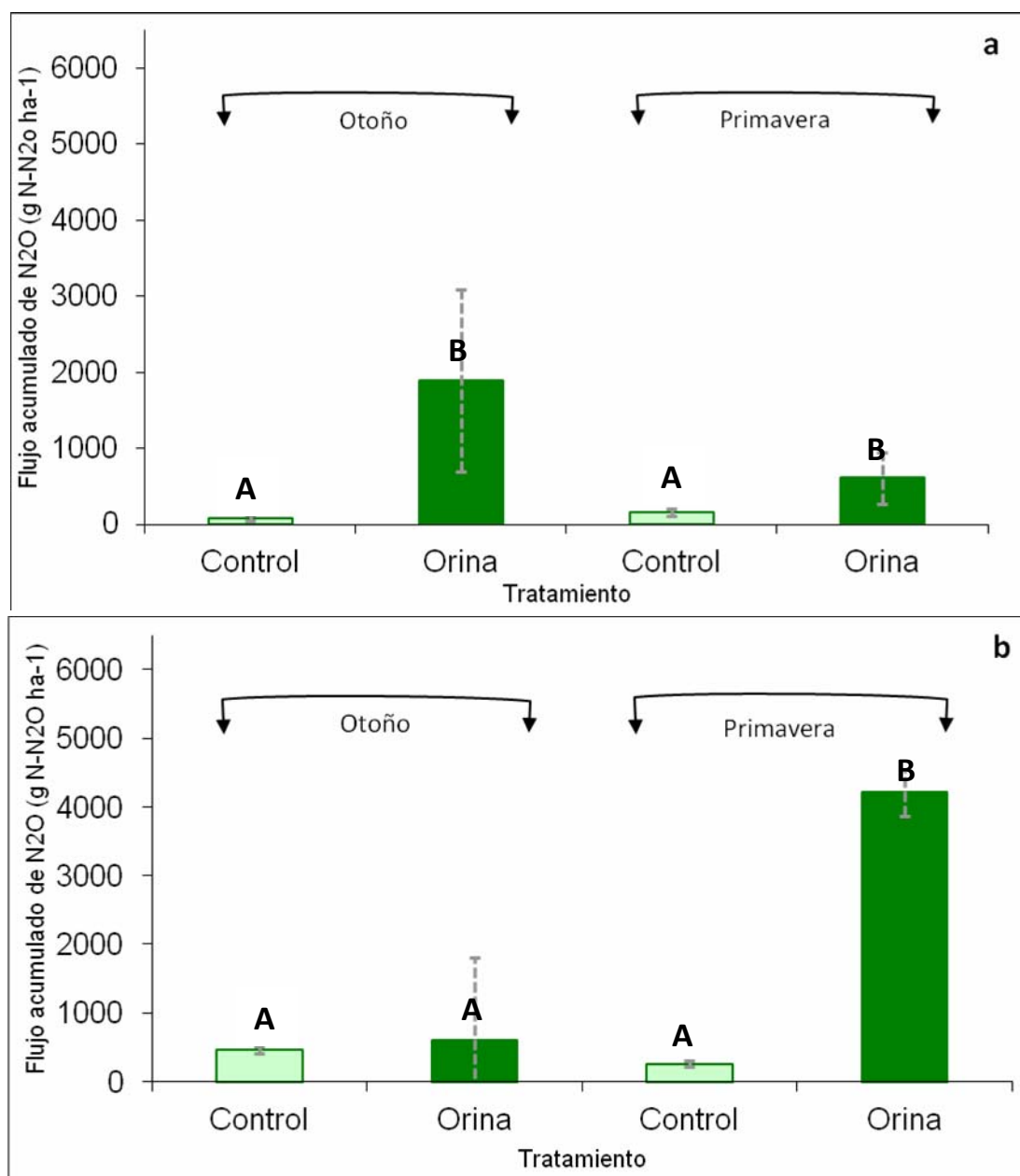


Figura 18. Flujo acumulado de N<sub>2</sub>O para un período de 60 días según estación del año (otoño y primavera) y tratamiento (orina y control) en campo natural (a) y pastura cultivada (b). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada estación (P<0.05).

Cuadro 3. Análisis de Varianza para los flujos acumulados de N<sub>2</sub>O ( $\alpha < 0.05$ ) en campo natural.

| Fuente                | Df | Sum Sq  | Valor F | Pr(>F)   |
|-----------------------|----|---------|---------|----------|
| Tratamiento           | 1  | 5137798 | 13.2792 | 0.003363 |
| Estación              | 1  | 1474835 | 3.8119  | 0.074615 |
| Tratamiento* Estación | 1  | 1832434 | 4.7361  | 0.050229 |
| Residuales            | 12 | 4642879 |         |          |

Cuadro 4. Análisis de Varianza para los flujos acumulados de N<sub>2</sub>O ( $\alpha < 0.05$ ) en pastura cultivada

| <b>Fuente</b>         | <b>Df</b> | <b>Sum Sq</b> | <b>Valor F</b> | <b>Pr(&gt;F)</b> |
|-----------------------|-----------|---------------|----------------|------------------|
| Tratamiento           | 1         | 16814862      | 15.952         | 0.001781         |
| Estación              | 1         | 11547196      | 10.955         | 0.006227         |
| Tratamiento* Estación | 1         | 14493874      | 13.750         | 0.002991         |
| Residuales            | 12        | 12648867      |                |                  |

En el experimento realizado sobre campo natural, el tratamiento tuvo un efecto significativo sobre el flujo de N<sub>2</sub>O acumulado en 60 días ( $P < 0,05$ ) (Cuadro 3). En ambas estaciones, el tratamiento orina presentó un flujo acumulado significativamente mayor que el control, observándose un valor 22 veces superior en otoño y casi cuatro veces en primavera (Fig. 18a). Para este experimento, el efecto estación no afectó significativamente la emisión de N<sub>2</sub>O ( $P < 0,075$ ) debido a la alta variabilidad de los datos obtenidos. Si bien el control presentó valores menores que la orina tanto en otoño como en primavera, la interacción “tratamiento\*estación” fue significativa ( $P < 0,05$ ) debido a que la magnitud de la diferencia entre tratamientos fue marcadamente distinta entre estaciones.

En el experimento realizado sobre pastura cultivada, el tratamiento tuvo un efecto significativo sobre el flujo de N<sub>2</sub>O acumulado en 60 días ( $P < 0,05$ ) a través de la estación del año (Cuadro 4). En el otoño, sin embargo, el flujo acumulado de N<sub>2</sub>O generado por el tratamiento con orina no fue diferente que el control (Fig 18b), mientras que en primavera la diferencia sí fue significativa y el tratamiento orina mostró un valor 16 veces mayor. Para este experimento, el efecto estación generó cambios significativos en la emisión de N<sub>2</sub>O ( $P < 0,05$ ). La interacción “tratamiento\*estación” fue significativa ( $P < 0,05$ ), lo que indica un comportamiento disímil entre estaciones: en otoño los tratamientos no mostraron diferencias significativas entre sí, mientras que en primavera la orina generó un flujo acumulado de N<sub>2</sub>O notoriamente mayor al control.

## 5. DISCUSION

Los valores de flujo de  $N_2O$  obtenidos en este estudio oscilaron entre  $\sim 0$  y  $1134.5 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ . En períodos con CAV baja ( $\leq 17,7\%$ ) se registraron valores  $\leq 5,6 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ . En una investigación realizada en diferentes tipos de suelo en Nueva Zelanda, con aplicación de orina bovina sintética, se obtuvieron valores de flujo de emisión de  $N_2O$  entre 300 y  $4900 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$  (de Klein et al., 2003), valores sensiblemente mayores a los registrados en el presente estudio.

Los patrones del flujo de emisión de  $N_2O$  mostraron variabilidad a lo largo de los períodos de muestreo en ambos experimentos observándose, en algunos casos, picos agudos de emisión. En general, estos picos estuvieron asociados a cambios en el CAV y EPRA que, a su vez, siguieron los patrones de precipitación, concordando con lo observado por otros autores (Ball et al., 1999; Machefert et al., 2002; Saggar et al., 2004b; Carter, 2007; Orwin et al., 2010). Estudios realizados por Brumme et al. (1999), de Klein et al. (2006), y Hyde et al. (2006) coinciden en que el factor hidrológico es el que mayor control ejerce sobre la emisión de  $N_2O$ . Los períodos que presentaron baja humedad del suelo, mantuvieron las emisiones de  $N_2O$  en valores bajos, al igual que lo observado por Velthof et al. (1996a) y Williams et al. (1999).

La evolución de las emisiones de  $N_2O$  observada en los experimentos del presente estudio mostró ser independiente de las fluctuaciones de la temperatura del suelo a pesar de que algunos autores (Machefert et al., 2002; Flessa et al., 1996; Williams et al., 1999; Singurindy et al., 2009) plantean que la temperatura es un factor determinante de la emisión de  $N_2O$ . Por ejemplo, en el otoño hacia el final del período de muestreo en el experimento de pastura cultivada, la temperatura del suelo descendió hasta los  $12^\circ\text{C}$ , sin afectar las emisiones de  $N_2O$ . Por otro lado, existen reportes que muestran respuesta de las emisiones de  $N_2O$  a los cambios de temperatura cuando el contenido de agua del suelo se encuentra cercano a la capacidad máxima de retención del mismo (Clayton et al., 1997; Brumme et al., 1999). En el presente estudio, ocurrieron períodos de bajo CAV durante el período de muestreo determinando valores de EPRA inferiores al rango óptimo para emisión de  $N_2O$ , definido entre 60-70% y 80-90% (Dobbie y Smith, 2001; Dalal et al., 2003). Esto podría explicar que los patrones de flujo de  $N_2O$  no siguieran la evolución de la temperatura del suelo. Por ejemplo, en el experimento de campo natural los valores de EPRA en primavera mostraron un valor máximo de 61,11%.

Los datos de pH y del contenido de  $\text{NH}_4^+$  del suelo estuvieron limitados a cuatro momentos de muestreo durante el período experimental y por lo tanto no permitieron establecer relaciones entre estas variables y la emisión de  $N_2O$ . Sin embargo, es importante destacar que la aplicación de orina no generó diferencias de pH del suelo respecto al control en ninguno de los experimentos. Para el caso del  $\text{NH}_4^+$ , la aplicación de orina solamente afectó significativamente en la segunda fecha de muestreo en el caso del campo natural. Sin embargo, ambas variables difirieron entre fechas lo que podría estar asociado a las variaciones de humedad en el suelo.

Los valores de  $\text{NO}_3^-$  del suelo en el experimento sobre pastura cultivada en primavera variaron significativamente entre tratamientos. El N aplicado a través de la orina ( $\text{N} < 2.1\%$ ) generó un incremento de  $\text{NO}_3^-$  del suelo que aumentó los niveles de N disponible lo que habría favorecido la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$ . Estos resultados concuerdan con lo observado por de Klein y Eckard (2001) y Smith et al. (2001), entre otros. Sin embargo para el caso del experimento sobre campo natural, se registró un solo momento con diferencias del contenido de  $\text{NO}_3^-$  entre tratamientos. Este resultado podría estar explicado por la aplicación de orina con bajo contenido de N ( $\text{N} < 0.6\%$ ) en campo natural.

En el experimento realizado sobre campo natural, el flujo acumulado en el tratamiento control fue bajo y similar entre estaciones. Sin embargo, en el mismo experimento el valor del flujo acumulado de  $\text{N}_2\text{O}$  debido a la aplicación de orina fue tres veces mayor en otoño que en primavera. Si bien en este experimento no se dispone de información de las condiciones de humedad del suelo en el otoño, el 87% de los valores registrados de EPRA en primavera fueron inferiores al 40%, lo que puede haber limitado la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$ . Por el contrario, en el experimento sobre pastura, en primavera se generó un valor de flujo acumulado casi siete veces mayor que en otoño. Esto concuerda con otros estudios (Christensen y Tiedje, 1990; Velthof et al., 1996a; Brumme et al., 1999), donde se obtuvieron resultados de flujo mayores durante la época de crecimiento (primavera). Además, esto coincide con que el 30% de los valores registrados de EPRA en primavera estuvieron dentro del rango óptimo para la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$ , mientras que en el otoño las condiciones óptimas se registraron en menos del 20% de las mediciones.

## 6. CONCLUSIONES

Este estudio permitió ajustar el protocolo y metodología de cuantificación de N<sub>2</sub>O en el campo utilizando las cámaras estáticas de flujo cerrado. A su vez, la información obtenida constituye una primera aproximación a la cuantificación de las emisiones de N<sub>2</sub>O en situaciones de pastoreo de bovinos para carne, tanto en campo natural como en pastura cultivada. Los valores de flujo de N<sub>2</sub>O obtenidos en este estudio oscilaron entre ~0 y 1134.5 µg N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>, valores sensiblemente menores a los registrados por estudios en otros países (de Klein et al., 2003).

La estación del año (otoño vs. primavera) no mostró resultados consistentes entre ambos experimentos: en el caso del experimento en campo natural, la estación no afectó las emisiones de N<sub>2</sub>O mientras que sí fueron afectadas en el experimento sobre pastura cultivada observándose mayores valores de emisión en primavera.

Las emisiones de N<sub>2</sub>O debido a la aplicación de orina fueron en promedio superiores al tratamiento control, excepto en las mediciones de otoño en el experimento de pastura cultivada. Si bien se trata de experimentos independientes, los valores de las emisiones observadas en el experimento de pastura cultivada fueron superiores a los de campo natural.

En general, los resultados muestran que el CAV y el EPRA, estimados a partir de la humedad del suelo, variaron entre experimentos y estación y afectaron el flujo de emisión N<sub>2</sub>O. La emisión de N<sub>2</sub>O siguió los patrones de precipitación, coincidiendo valores altos de flujo con valores altos de CAV. La ausencia de grandes lluvias durante el proceso de medición puede haber contribuido a una baja fluctuación temporal de los flujos de N<sub>2</sub>O. La repetición de los períodos de muestreo de N<sub>2</sub>O durante varios años, acompañados de múltiples y frecuentes mediciones de propiedades de suelo durante todo el año, facilitaría la interpretación de los resultados obtenidos.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Ahn YH.** 2006. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry* 41(8):1709-1721.
- Albin, R. C. and D. C. Clanton.** 1966. Factors contributing to the variation in urinary creatinine and creatinine-nitrogen ratios in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 25 : 107.
- Allen, A.G., Jarvis, S.C., Headon, D.M.,** 1996. Nitrous oxide emissions from soils due to inputs of nitrogen from excreta return by livestock on grazed grassland in the UK. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 597±607.
- Ambus, P., Petersen, S.O., Soussana, J.F.,** 2007. Short-term carbon and nitrogen cycling in urine patches assessed by combined carbon-13 and nitrogen-15 labelling. *Agric. Ecosyst. Environ.* 121 (1–2), 84–92.
- Anger, M., Hoffmann, C., Kuhbauch, W.,** 2003. Nitrous oxide emissions from artificial urine patches applied to different N-fertilized swards and estimated annual N<sub>2</sub>O emissions for differently fertilized pastures in an upland location in Germany. *Soil Use Manage.* 19, 104–111.
- Baethgen, W. E. y Martino, D. L.,** 2001. Greenhouse gas emissions in the agricultural and forestry sectors of Uruguay and opportunities in the carbon market. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 9(2): 127-134.
- Bhandral, R., Bolan, N.S., Saggar, S., Hedley, M.J.,** 2007. Nitrogen transformations and nitrous oxide emissions from various types of farm effluents. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 79, 193–208.
- Ball B. C., Scott A., Parker J. P.,** 1999. Field N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> fluxes in relation to tillage, compaction and soil quality in Scotland. *Soil & Tillage Research* 53, 29±39
- Bange, H.W.,** 2000. It's not a gas. *Nature*, 408, 301–302.
- Bol, R., Petersen, S.O., Christofides, C., Dittert, K., Handsen, M.N.,** 2004. Short-term N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> fluxes, and N/C transfers in a Danish grass-clover pasture after simulated urine deposition in autumn. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 167, 568–576.
- Bouwman, A.** 1996. Direct emissions of nitrous oxide from agricultural soils. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 46, 53–70
- Bouwman, A.F., Boumans, L.J.M., Batjes, N.H.,** 2002. Modelling global annual N<sub>2</sub>O and NO emissions from fertilized fields. *Global Biogeochem. Cycles* 16, 1080.
- Bremner JM, Blackmer AM.,** 1981. Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide In: Delwiche CC (ed) Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide. Wiley, New York, pp 151–170
- Brown, L., Armstrong Brown, S., Jarvis, S.C., Syed, B., Goulding, K.W.T., Phillips, V.R., Sneath, R.W. and Pain, B.F.,** 2001. An inventory of nitrous oxide emissions from agriculture in the UK using the IPCC methodology: emission estimate, uncertainty and sensitivity analysis. *Atmos. Environ.*, **35**, 1439–1449.
- Brumme, R., Borken, W. and Finke, S.,** 1999. Hierarchical control on nitrous oxide emission in forest ecosystems. *Global Biogeochem. Cycle*, **13**, 1137–1148.
- Burford, J.R., Dowdell, R.J., Crees, R.,** 1981. Emission of nitrous-oxide to the atmosphere from direct-drilled and ploughed clay soils. *J. Sci. Food Agric.* 32, 219–223.
- Carter, M.S.,** 2007. Contribution of nitrification and denitrification to N<sub>2</sub>O emissions from urine patches. *Soil Biol. Biochem.* 39, 2091–2102.
- Cervantes-Carrillo F, Pérez J, Gómez J.** 2000. Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales. México, D. F.: Revista Latinoamericana de Microbiología. p 73-82.
- Chen, D., Li, Y., Grace, P., and Mosier, A. R.,** 2008. N<sub>2</sub>O emissions from agricultural lands: A synthesis of simulation approaches. *Plant Soil* 309, 169–189.
- Christensen, S., Tiedje, J.M.,** 1990. Brief and vigorous N<sub>2</sub>O production by soil at spring thaw. *J. Soil Sci.* 41, 1–4.
- Clayton, H., McTaggart, I.P., Parker, J., Swan, L., Smith, K.A.,** 1997. Nitrous oxide emissions from fertilised grassland: a 2-year study of the effects of N fertilizer form and environmental conditions. *Biol. Fert. Soils* 25, 252–260.
- Clough, T.J., Ledgard, S.F., Sprosen, M.S., Kear, M.J.,** 1998. Fate of <sup>15</sup>N-labelled urine on four soil types. *Plant Soil* 199, 195–203.

- Clough, T.J., Sherlock, R.R., Cameron, K.C., Ledgard, S.F.**, 1996. Fate of urine nitrogen on mineral and peat soils in New Zealand. *Plant and Soil* 178, 141±152.
- Clough, T.J., Sherlock, R.R., Kelliher, F.M.**, 2003. Can liming mitigate N<sub>2</sub>O fluxes from a urine-amended soil? *Aust. J. Soil Res.* 41, 439–457.
- Dalal, R.C., Wang, W., Robertson, G.P., Parton, W.J.**, 2003. Nitrous oxide emissions from Australian agricultural lands and mitigation options. *Aust. J. Soil Res.* 41, 165–195.
- Davies, M.G., Smith, K.A., Vinten, A.J.A.**, 2001. The mineralisation and fate of nitrogen following ploughing of grass and grass-clover swards. *Biol. Fertil. Soils* 33, 423–434. Velthof, G.L., Hoving, I.E., Dolfing, J., Smit, A., Kuikman, P.J., Oenema, O., 2009.
- Davidson, E.A.**, 1991. Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. In: *Microbial Production and Consumption of Greenhouse gases: Methane, Nitrogen oxides and Halo-Methanes*, J.E. Rogers and W.B. Whitman, (Eds.), 219-235. Amer. Soc. Microbiol., Washington, DC.
- Davidson, E.A.**, 1992. Sources of nitric oxide and nitrous oxide following wetting of dry soil. *Soil Science Society of America Journal* 56, 95±102.
- de Klein, C.A.M., Barton, L., Sherlock, R.R., Zheng, L., Littlejohn, R.P.**, 2003. Estimating a nitrous oxide emission factor for animal urine from some New Zealand pastoral soils. *Aust. J. Soil Res.* 41, 381–399.
- de Klein, C.A.M., Eckard, R.J.**, 2008. Targetted technologies for nitrous oxide abatement from animal agriculture. *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 14–20.
- de Klein, C.A.M., Ledgard, S.F.**, 2005. Nitrous oxide emissions from New Zealand agriculture—key sources and mitigation strategies. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 72, 77–85.
- de Klein, C.A.M., Smith, L.C., Monaghan, R.M.**, 2006. Restricted autumn grazing to reduce nitrous oxide emissions from dairy pastures in Southland, New Zealand. *Agric. Ecosyst. Environ.* 112, 192–199.
- Di, H.J., Cameron, K.C.**, 2006. Nitrous oxide emissions from two dairy pasture soils as affected by different rates of a fine particle suspension nitrification inhibitor, dicyandiamide. *Biol. Fertil. Soils* 42, 472–480.
- Di, H.J., Cameron, K.C.**, 2008. Sources of nitrous oxide from 15N-labelled animal urine and urea fertilizer with and without a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD). *Aust. J. Soil Res.* 46, 76–82.
- Dobbie, K. E. & Smith, K. A.**, 2001. The effects of temperature, water-filled pore space and land use on N<sub>2</sub>O emissions from an imperfectly drained gleysol. *European Journal of Soil Science.* 52, 667±673
- Dobbie, K., Smith, K.**, 2003. Impact of different forms of fertilizer on N<sub>2</sub>O emissions from intensive grassland. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 67, 37–46.
- Douglas, J.T., Crawford, C.E.**, 1993. The response of a ryegrass sward to wheel traffic and applied nitrogen. *Grass Forage Res.* 48, 91–100.
- Eckard, R.J., Chen, D., White, R.E., Chapman, D.F.**, 2003. Gaseous nitrogen loss from temperate perennial grass and clover dairy pastures in south-eastern Australia. *Aust. J. Soil Res.* 54, 561–570.
- Flessa, H., Dorsch, P., Beese, F., König, H., Bouwman, A.F.**, 1996. Influence of cattle wastes on nitrous oxide and methane fluxes in pasture land. *Journal of Environmental Quality* 25, 1366±1370.
- Flessa H., Ruser R., Dörsch P., Kamp T., Jimenez M.A., Munch J.C., Beese F.**, 2002. Integrated evaluation of greenhouse gas emissions (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O) from two farming systems in southern Germany. *Agr., Ec. & Env.* 91, 175–189
- Galbally I.E., Meyer M.C.P., Wang Y.-P., Smith C.J., Weeks I.A.**, 2010. Nitrous oxide emissions from a legume pasture and the influences of liming and urine addition. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 136, 262–272
- Hasegawa K., Hanaki K., Matsuo T., Hidaka S.**, 2000. Nitrous oxide from the agricultural water system contaminated with high nitrogen. *Chemosphere ± Global Change Science* 2, 335±345
- Hoogendoorn, C.J., de Klein, C.A.M., Rutherford, A.J., Letica, S., Devantier, B.P.**, 2008. The effects of increasing rates of nitrogen fertiliser and nitrification inhibitor on nitrous oxide emissions from urine patches on sheep grazed hill country pasture. *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 147–151.
- Hutchinson, G.L. and Mosier, A.R.** 1981. Improved soil cover method for field measurement of nitrous oxide fluxes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45:311-316.

- Hyde, B.P., Hawkins, M.J., Fanning, A.F., Noonan, D., Ryan, M., O'Toole, P., Carton, O.T.,** 2006. Nitrous oxide emissions from a fertilized and grazed grassland in the south east of Ireland. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 75, 187–200.
- IPCC** Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, 2006. <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/index.html>
- Johnson, K., and Johnson, D.,** 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73, 2483–2492
- Kaiser E.A. y Heinemeyer O.,** 1996. Temporal changes in N<sub>2</sub>O-losses from two arable soils. *Plant and Soil* 181: 57-63.
- Kebreab, E., France, J., Beever, D.E., Castillo, A.R.,** 2001. Nitrogen pollution by dairy cows and its mitigation by dietary manipulation. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 60, 275–281.
- Kelly, K.B., Phillips, F.A., Baigent, R.,** 2008. Impact of dicyandiamide application on nitrous oxide emissions from urine patches in northern Victoria, Australia. *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 156–159.
- Kertz A. F., Prewitt L. R., Lane A. G. y Campbell J. R.,** 1970. Effect of Dietary Protein Intake on Creatinine Excretion and the Creatinine-Nitrogen Ratio in Bovine Urine. *J Anim Sci* 30:278-282
- Koops, J.G., Van Beusichem, M.L., Oenema, O.,** 1997. Nitrous oxide production, its source and distribution in urine patches on grassland on peat soil. *Plant and Soil* 191, 57±65.
- Lashof, D.A. and Ahuja, D.R.,** 1990. Relative contribution of greenhouse gas emissions to global warming. *Nature*, 344, 529–531.
- Ledgard, S.F., Penno, J.W., Sprosen, M.S.,** 1999. Nitrogen inputs and losses from clover/grass pastures grazed by dairy cows, as affected by nitrogen fertilizer application. *J. Agric. Sci.* 132, 215–225.
- Lovell, R.D., Jarvis, S.C.,** 1996. Effects of urine on soil microbial biomass, methanogenesis, nitrification and denitrification in grass-land soils. *Plant and Soil* 186, 265±273.
- Luo J., de Klein C.A.M., Ledgard S.F., Saggart S.,** 2010. Management options to reduce nitrous oxide emissions from intensively grazed pastures: A review. *Agr., Ec. & Env.* 136, 282–291.
- Luo, J., Donnison, A., Ross, C., Ledgard, S.F., Longhurst, R.D.,** 2006. Control of pollutants using stand-off pads containing different natural materials. *Proc. N. Z. Grassl. Assoc.* 68, 315–320.
- Luo, J., Ledgard, S.F., Lindsey, S.B.,** 2008d. A test of a winter farm management option for mitigating nitrous oxide emissions from a dairy farm. *Soil Use Manage.* 24, 121–130.
- Luo, J., Ledgard, S.F., Lindsey, S.,** 2007. Nitrous oxide emission from urea application. *N. Z. J. Agric. Res.* 50, 1–11.
- Machefert S.E., Dise N.B., Goulding K.W.T., Whitehead P.G.,** 2002. Nitrous oxide emission from a range of land uses across Europe. *Hydrology and Earth System Sciences*, 6(3), 325–337
- Matthews R.A., Chadwick D.R., Retter A.L., Blackwell M.S.A, Yamulki B.,** 2010. Nitrous oxide emissions from small scale farmland features of UK livestock farming systems. *Agric., Eco. & Env.* 136, 192-198.
- Monteny, G. J., Groenestein, C. M., and Hilhorst, M. A.** (2001). Interactions and coupling between emissions of methane and nitrous oxide from animal husbandry. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 60, 123–132.
- Mosier, A., Kroeze, C., Nevison, C., Oenema, O., Seitzinger, S., and Van Cleemput, O.** 1998. Closing the global N<sub>2</sub>O budget: Nitrous oxide emissions through the agricultural nitrogen cycle: OEDC/IPCC/IEA phase II development of IPCC guideline for national greenhouse gas methodology. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 52, 225–248.
- Nielsen, N.M., Kristensen, T., Nørgaard, P., Hansen, H.,** 2003. The effect of low protein supplementation to dairy cows grazing clover grass during half of the day. *Livest. Prod. Sci.* 81, 293–306.
- Nelson, D.W., Bremner, J.M.,** 1970. Gaseous products of nitrite de-composition in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 2, 203±215.
- Oenema, O., Velthof, G.L., Yamulki, S., Jarvis, S.C.,** 1997. Nitrous oxide emissions from grazed grassland. *Soil Use Manage.* 13, 288–295.
- Oenema, O., Wrage, N., Velthof, G.L., van Groenigen, J.W., Dolfing, J., Kuikman, P.J.,** 2005. Trends in global nitrous oxide emissions from animal production systems. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 72, 51–65.
- Orwin, K.H., Bertram, J.E., Clough, T.J., Condron, L.M., Sherlock, R.R., O'Callaghan, M., Ray, J., Baird, D.B.,** 2010. Impact of bovine urine deposition on soil microbial activity, biomass, and community structure. *Applied Soil Ecology* 44, 89–100.



**Pedersen, A.R., Petersen, S.O. and Schelde, K.,** 2010. A comprehensive approach to soil-atmosphere trace gas flux estimation with static chambers. *Eur. J. Soil Sci.*, 61, 888-902.

**Pitesky M. E., Stackhouse K. R., Mitloehner F. M.,** 2009. Clearing the Air: Livestock's Contribution to Climate Change. *Advances in Agronomy*, 103.

**Poth, M. and Focht, D.D.,** 1985. <sup>15</sup>N kinetic analysis of N<sub>2</sub>O production by *Nitrosomonas Europeae*: An examination of nitrifier denitrification. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 1134–1141.

**Robertson, G.P., Tiedje, J.M.,** 1987. Nitrous oxide sources in aerobic soils: nitrification, denitrification and other biological processes. *Soil Biol. Biochem.* 19, 187–193.

**Rochette, P., Eriksen-Hamel, N.S.,** 2008. Chamber measurements of soil nitrous oxide flux: are absolute values reliable? *Soil Sci. Soc. Am.* 72, 331–342.

**Ryden, J.C.,** 1983. Denitrification loss from a grassland soil in the field receiving different rates of nitrogen as ammonium-nitrate. *J. Soil Sci.* 34, 355–365.

**Saggar, S., Andrew, R.M., Tate, K.R., Hedley, C.B., Rodda, N.J., Townsend, J.A.,** 2004b. Modelling nitrous oxide emissions from New Zealand dairy grazed pastures. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 68, 243–255.

**Satter, L.D., Klopfenstein, T.J., Erickson, G.E.,** 2002. The role of nutrition in reducing nutrient output from ruminants. *J. Anim. Sci.* 80, 143–156.

**Schmidt-Nielsen.** 1958. Urea excretion in mammals. *Physiol. Rev.* 38:139

**Segunda Comunicación Nacional** a la Conferencia de las Partes en la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático, 2004. MVOTMA (Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente), DINAMA (Dirección Nacional de Medio Ambiente) y UCC (Unidad de Cambio Climático). [unfccc.int/resource/docs/natc/urync2.pdf](http://unfccc.int/resource/docs/natc/urync2.pdf)

**Sherlock, R.R., Goh, K.M.,** 1983. Initial emission of nitrous oxide from sheep urine applied to pasture soil. *Soil Biology & Biochemistry* 15, 615±617.

**Singurindy O., Molodovskaya M., Richards B. K., Steenhuis T. S.,** 2009. Nitrous oxide emission at low temperatures from manure-amended soils under corn (*Zea mays* L.). *Agr., Ec. & Env.* xxx (2009) xxx–xxx

**Skiba, U.M., McTaggart, I.P., Smith, K.A., Hargreaves, K.J. and Fowler, D.,** 1996. Estimates of nitrous oxide emissions from soil in the UK. *Energy Conv. and Manage.*, 37, 1303–1308.

**Smith, K.A., McTaggart, I.P., Dobbie, K.E., Conen, F.,** 1998. Emissions of N<sub>2</sub>O from Scottish agricultural soils, as a function of fertilizer N. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 52, 123–130.

**Smith K., Bouwman L., Braatz B.,** 2001. N<sub>2</sub>O: direct emissions from agricultural soils. Good Practice Guidance and Uncertainty Management in National Greenhouse Gas Inventories. IPCC.

**Utley P. R., Bradley N. W. y Boling J. A.,** 1969. Effect of Water Restriction on Nitrogen Metabolism in Bovine Fed Two Levels of Nitrogen. *J. Nutrition*, 300.- 551-556.

**van der Meer, H.G.,** 2008. Optimising manure management for GHG outcomes. *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 38–45.

**van der Weerden T.J., Sherlock R.R., Williams P.H., Cameron K.C.,** 1999. Nitrous oxide emissions and methane oxidation by soil following cultivation of two different leguminous pastures. *Biol Fertil Soils.* 30, 52–60.

**van Groenigen, J.W., Kuikman, P.J., de Groot, W.J.M., Velthof, G.L.,** 2005. Nitrous oxide emission from urine-treated soil as influenced by urine composition and soil physical conditions. *Soil Biol. Biochem.* 37, 463–473.

**Velthof, G.L., Brader, A.B., Oenema, O.,** 1996a. Seasonal variations in nitrous oxide losses from managed grasslands in The Netherlands. *Plant and Soil* 181, 263±274.

**Velthof, G.L., Jarvis, S.C., Stein, A., Allen, A.G., Oenema, O.,** 1996b. Spatial variability of nitrous oxide fluxes in mown and grazed grasslands on a poorly drained clay soil. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 1215±1225.

**Velthof, G.L., van Beusichem, M.L., Oenema, O.,** 1998. Mitigation of nitrous oxide emission from dairy farming systems. *Environ. Pollut.* 102, 173–178.

**Wachendorf, C., Lampe, C., Taube, F., Dittert, K.,** 2008. Nitrous oxide emissions and dynamics of soil nitrogen under <sup>15</sup>N-labelled cow urine and dung patches on a sandy grassland soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 171, 171–180.

- Weier, K.L., Gilliam, J.W.**. 1986. Effect of acidity on denitrification and nitrous oxide evolution from Atlantic Coastal Plain soils. *Soil Science Society of America Journal* **50**, 1202±1205.
- Williams D.L., Ineson P., Coward P.A.**, 1999. Temporal variations in nitrous oxide fluxes from urine-affected grassland. *Soil Biology and Biochemistry* **31**, 779±788.
- Whitehead, D.C.**, 1995. *Grassland Nitrogen*. CAB International, Wallingford, Oxon, p. 397.
- Whitehead, D.C.**, 1970. The role of nitrogen in grassland productivity. Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal.
- Zaman, M., Nguyen, M.L., Matheson, F., Blennerhassett, J.D., Quin, B.F.**, 2007. Can soil amendments (zeolite or lime) shift the balance between nitrous oxide and dinitrogen emissions from pasture and wetland soils receiving urine or urea-N? *Aust. J. Soil Res.* **45**, 543–553.